现代化学试剂手册

第三分册 · 生化试剂（一）

化学工业出版社

VISIT…

LANZAROTE Caliente.com

现代化学试剂手册

第 三 分 册

生 化 试 剂（一）

谭佩幸　陶宗晋
祁国荣　徐俊杰　编

化 学 工 业 出 版 社

内 容 提 要

《现代化学试剂手册》将以分册形式陆续出版。本书为第三分册，生化试剂(一)。本分册分三部分。第一部分包括氨基酸及其衍生物，酶及有关化合物，非酶蛋白质，核苷酸及其衍生物。分别介绍了各类生化试剂的名称、结构式、分子式、分子量、理化性质、理化参数、制备方法、用途、参考文献等内容。

本书可供从事生物化学、高分子生物学、生物遗传学、生物工程、生化制药、生化试剂、生化检验的研究人员、教师、工程技术人员、医学化验人员等参考。

现代化学试剂手册

第三分册

生化试剂(一)

谭佩幸 陶宗晋
祁国荣 徐俊杰 编

责任编辑：王秀鸾

封面设计：许 立

化学工业出版社出版发行

(北京和平里七区十六号楼)

化学工业出版社印刷厂印刷

新华书店北京发行所经销

开本787×1092 1/16印张42字数1,069千字

1990年8月第1版 1990年8月北京第1次印刷

印 数 1—7,300

ISBN 7-5026-0613-6/TQ·363

定 价25.50元

出版者的话

化学试剂是品种繁多，用途广泛的一大类精细化学品。在国际上，已生产过的化学试剂已多达五万余种，而且随着科学技术的发展和生活的现代化，试剂类别在不断变化，品种在不断增加。经典意义的化学试剂，是指那些在化学实验室使用的各种标准纯度的纯化学物质。随着科学技术的发展，化学试剂的范围早已大大突破了这种经典定义。目前广泛使用的化学试剂，除了用于金属、非金属和有机化合物的定性、定量分析与分离的大量传统品种外，还有用于化学合成的各种反应性试剂。特别是现代科学技术，如光纤通讯、电子工业、核技术、能源、遗传工程、材料科学等的发展，均需要多种标准物质、纯工业原料、高纯试剂、特纯功能材料、生化试剂等等。

为了使广大化学试剂使用者能在浩瀚的试剂海洋中方便地获取有用的信息和资料，我们决定组织出版大型工具书——《现代化学试剂手册》。为了使用方便，本书基本按应用情况划类分册出版。全书拟含通用试剂、化学分析试剂、仪器分析试剂、无机离子显色试剂、生化试剂、临床试剂、高纯试剂、元素有机化合物试剂和总索引等分册（书名与册数暂定）。

与同类书相比，本书的主要特色是：

1．读者对象以试剂应用者为主，兼顾生产者，适用面十分广泛；

2．收集品种数量多，数据资料齐全；

3．每个品种均有合成和提纯方法，对于用户十分必要；

4．尽量收集别名，便于查阅；

5．各分册都编有中文名称笔划索引、中文名称拼音索引和英文名称索引，最后一册编制总索引，可兼作英汉化学试剂名称词典使用，对于读者检索查阅十分方便。

为了随时解决各分册在编写过程中遇到的各种问题，我社组织了《实用化学试剂手册》的组织协调委员会，主要负责整套书的统筹计划，各分册内容协调和解决手册中出现的共性问题。该委员会的成员有：梁树权、王夔、曹庭礼、张泰、时雨。

编写这套化学试剂多卷集大型工具书，乃初次尝试。因此，一定会有这样或那样的问题，希望广大读者批评指正。

化学工业出版社

1986年1月

前　言

化学试剂是科学研究、工农业生产、文教卫生、国防建设乃至国民经济各部门工作中所必不可少的化学品。其特点是门类及品种多、用途广、质量控制严格，在我国实现四个现代化的进程中起着重要的作用。

生化试剂是化学试剂的一个新兴而重要的门类，发展迅速。据不完全统计，它每年以百分之百的速度递增。本书是《现代化学试剂手册》第三分册，生化试剂的第一部分，共730多个品种。其中包括生物化学工作中常用的氨基及其衍生物，酶及有关化合物，非酶蛋白质，核苷酸及其衍生物四章。介绍了试剂的名称，结构式，分子式，分子量，理化性质，理化参数，制备方法及用途等。生化试剂一般都比较娇嫩，贮存条件要求较高，因此，在编写中注明了避光、冷藏、防潮等条件。考虑到生化试剂属比较新的化学试剂，可能读者接触较少，在提供制备方法时，收集了一些比较分散，零碎的资料，尽可能使之详细。有些是作者的经验。制备方法一般仅供实验室使用，它们都是可行的，但不是最优化的。我们希望这些内容能对广大读者有所帮助。为了读者检索方便起见，书后编排了中文名称索引（中文笔画索引及汉语拼音索引）和英文名称索引。

本分册第一部分的第一章第一节由陶宗晋执笔；第一章第二节、第二章第三节由徐俊杰执笔；第二章第一、二节及第三章由谭佩幸执笔；第四章由祁国荣执笔；张敏杰、陶立编索引。最后由谭佩幸定稿和编目等。

由于我们知识面的局限，以及生化试剂发展迅速，本书中，肯定有许多没有包括进去的和不足之处，热忱期待读者批评、指正。

希望今后有不断补充，跟上时代的步伐。

编者

一九八八年九月

目　录

前　言

第一章　氨基酸及其衍生物 …… 1

第一节　氨基酸 …… 1

第二节　氨基酸衍生物 …… 87

第二章　酶及有关化合物 …… 237

第一节　酶 …… 237

第二节　酶的发色底物 …… 347

第三节　固定化酶 …… 404

第三章　非酶蛋白质 …… 422

第一节　非酶蛋白 …… 422

第二节　凝集素 …… 453

第四章　核苷酸及其衍生物 …… 458

第一节　核酸碱基、核苷、核苷酸 …… 458

第二节　核酸碱基、核苷、核苷酸衍生物 …… 548

单位换算表 …… 596

常用生化名词缩写或简称表 …… 597

离心加速度计算表 …… 600

符号表 …… 601

中文名称笔画索引 …… 602

中文名称汉语拼音索引 …… 620

英文名称索引 …… 640

第一章　氨基酸及其衍生物

第一节　氨基酸

DL-丙氨酸　　Ⅱ-1(1)-0001

DL-Alanine

别名　DL-α-氨基丙酸DL-α-Aminopropionic acid

结构式　$CH_3CH(NH_2)COOH$

分子式　$C_3H_7NO_2$　　**分子量**　89.09

理化性质　自水中得针状或棱柱形结晶。溶于水（25℃，16.6g/100mL；75℃，32.2g/100mL）、乙醇(75℃，0.57g/100mL 75%乙醇；25℃，0.084g/100 mL 80%乙醇；0.0087g/100mL100%乙醇)；不溶于乙醚。

理化参数　熔点295℃（分解）。25℃，pK_1 2.35，$pK_2$9.87

制备方法[1]　加130g新蒸的乙醛于2L烧瓶中的100mL乙醚中，冰浴冷却至5℃。将180g氯化铵溶于550mL水，加到上述乙醚溶液中，然后再加氰化钠溶液（150g氰化钠溶于400mL水)。加塞，在摇床上室温下振荡4小时。在通风橱内转入3L蒸馏烧瓶中，加入600mL浓盐酸（相对密度1.19)。蒸馏，直到析出的盐多到不能再进行蒸馏为止。移入蒸发皿在蒸汽浴上蒸干。残渣用800mL 95%乙醇搅拌，过滤滤液在蒸汽浴上蒸去乙醇，最后一点残余乙醇在真空下蒸去。趁热将残渣溶于含2%氯化氢的95%乙醇（500mL）中，放冷，加入200mL乙醚。过滤溶液，滤液蒸去乙醚及乙醇后减压蒸去残余的盐酸。将残渣溶于1500mL水，加入220g黄色氧化铅，微微沸腾1小时，不时添加水补足至原体积。冷却，滤去生成的氯化铅后，再加100g氢氧化铅煮沸1小时。加入20g新鲜制备的氧化铅，继续煮沸20分钟。冷却，过滤，滤液煮沸，按计算量定量加入氧化银。滤去生成的氯化银后，通入硫化氢气体。滤去生成的硫化铅，浅黄色滤液煮沸蒸发至约400mL。加入600mL95%乙醇，充分冷却后，生成的DL-丙氨酸用200mL乙醇洗涤之。在水-乙醇中进行重结晶。

贮存　室温。

参 考 文 献

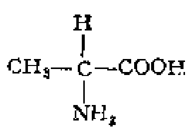
〔1〕 Kendall, E. R. and Mckeneth, B. F.; "Organic Syntheses", Coll. 1, 20, 1932.

L-丙氨酸　　Ⅱ-1(1)-0002

L-Alanine

别名　L-α-氨基丙酸　L-α-Aminopropionic acid

结构式



1106702

分子式 $C_3H_7NO_2$ **分子量** 89.09

理化性质 自水中得菱形结晶。溶于水（25℃，16.65g/100mL水；75℃，28.5g/100mL水）、乙醇（20℃，0.16g/100mL；100%乙醇）；不溶于乙醚和丙酮。

理化参数 熔点 297℃（分 解）。$[\alpha]_D^{25}$ + 14.6°（C=2.0，5mol/L盐酸），+1.8°（C=2.0，水）。

制备方法[1] 89g DL-丙氨酸与 900mL 冰乙酸混合，加热至沸，冷却 1～2 分钟，小心地加入150mL乙酸酐。加完后反应液再度煮沸 2 分钟，然后冷至室温（25℃）。40℃减压浓缩至浆状，加水后又在40℃减压浓缩，反复加水浓缩数次。加入苯，减压浓缩一次。残渣溶于少量无水乙酸乙酯，冰冷之。接入晶种并摩擦皿壁，乙酰-DL-丙氨酸迅析出。5℃放置 18小时，抽气快速过滤，结晶以无水乙醚洗涤，25℃干燥，得乙酰-DL-丙氨酸105g。13.1g乙酰-DL-丙氨酸溶于800mL水，加入 1～2 滴酚红指示剂后，以25%氢氧化铵调至pH7.0～7.2，加水稀释至1L。溶入20mg酰化酶Ⅰ，38℃保温24小时。补加5mg酰化酶Ⅰ，再在38℃保温16小时。加入10mL冰乙酸和1g活性炭，过滤，以少量水洗滤渣。合并滤液及洗涤液减压浓缩至50mL（<30℃）。加乙醇至乙醇浓度为80%，L-丙氨酸立即结晶。5℃冷却 6 小时后，抽气过滤，以乙醇、乙醚依序洗涤L-丙氨酸结晶后干燥。母液及洗涤液含有乙酰-D-丙氨酸可用于制取D-丙氨酸。上述L-丙氨酸结晶仍夹杂有少量蛋白质，溶于少量热水，以活性炭处理，过滤，滤液加热至沸，加入沸乙醇至乙醇浓度80%。5℃放置几小时后，抽气过滤，结晶用乙醇、乙醚先后洗涤，78℃，133Pa压力下干燥数小时，纯L-丙氨酸产量约3.5g。

贮存 室温。

参 考 文 献

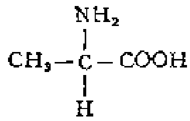
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M: "Chemistry of the Amino Acids", Vol.3, J. Wiley and Sons, Inc. 1831, 1961.

D-丙氨酸 Ⅱ-1(1)-0003

D-Alanine

别名 D-α-氨基丙酸 D-α-Aminopropionic acid

结构式



分子式 $C_3H_7NO_2$ **分子量** 89.09

理化性质 自乙醇中得白色针状或棱柱形结晶。溶于水（20℃，15.78g/100mL水）、80%冷乙醇（0.2g/100mL）；不溶于乙醚。

理化参数 熔点 295℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}$ − 14.6°（C= 2.0,5mol/L盐酸），−1.8°（C=2.0，水）。

制备方法[1] 从 DL-丙氨酰制备 L-丙氨酸所得的母液〔见L-丙氨酸（Ⅱ-1(1)-0002）制备方法〕在室温以干燥空气吹去溶剂。油状残渣溶于约50mL冷水，冰冷后，加入 2.5mol/L硫酸至刚果红试纸呈深蓝色。30℃减压浓缩至干，残渣以100mL温热丙酮萃取 5 次。合并萃取液，过滤，滤液以干空气吹去溶剂，油状残渣溶于50mL 2mol/L盐酸，回流 2 小时，40℃减压蒸干。再进行 2～3 次加水后减压蒸干除去过量的盐酸。残渣溶于 50mL 水，加入苯胺

至反应液对刚果红试纸不再呈蓝色反应。加入乙醇至乙醇浓度为80%，D-丙氨酸结晶粗品析出。5℃放置几小时后，抽气过滤，以乙醇、乙醚先后洗涤结晶并干燥之。纯的D-丙氨酸产量约21.5g。

贮存 室温。

参 考 文 献

〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons Inc 1832, 1961.

β-丙氨酸 Ⅱ-1(1)-0004

β-Alanine

别名 β-氨基丙酸 β-Aminopropionic acid

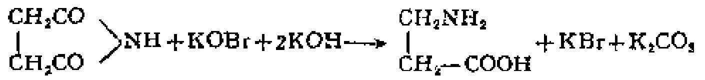
结构式 $H_2N—CH_2—CH_2—COOH$

分子式 $C_3H_7NO_2$ **分子量** 89.09

理化性质 自乙醇中得无色菱形结晶，水中得无色棱柱结晶。溶于水（25℃，54.5g/100mL）、乙醇（25℃，0.017g/100mL）；不溶于乙醚、乙酸乙酯、三氯甲烷。升华。在碱中，37℃分解产生氨和丙烯酸。

理化参数 熔点196℃（分解）。25℃ $pK_1 3.55$，$pK_2 10.24$

制备方法[1]



302g氢氧化钾溶于2720mL水，冷至0～5℃，搅拌下缓缓加入96.6g(30.8mL)溴。冷至0℃，加入59.4g琥珀酰亚胺。混合物在水浴上加热至55～60℃，当颜色褪去后，继续保温2小时。室温放置过夜，用浓盐酸酸化至刚果红变色。蒸汽浴上减压浓缩至干。残渣以100mL 95%乙醇抽褪。蒸发抽提液至干，再一次用140mL热的无水乙醇抽褪。不溶物离心去之。上清液蒸去大部分乙醇后，用200mL蒸馏水稀释。以80mL乙醚二次萃取，乙醚层弃去。水层吹去乙醚与乙醇后，回流1～1.5小时。减压浓缩蒸去过量的盐酸，用水稀释至1L。取出5mL测定总的卤素含量。以此计算需要的氧化银量。溶液中加10%过量的氧化银悬浮液，充分搅匀，放置过夜。过滤滤渣用水洗涤。合并滤液及洗涤液，减压浓缩至400mL，通硫化氢至饱和，加活性炭脱色过滤。无色滤液在蒸汽浴上浓缩至出现结晶，冰浴冷却，吸气过滤。结晶以少量冷乙醇洗涤后干燥，所得β-丙氨酸在水中重结晶。

贮存 室温。

参 考 文 献

〔1〕 Clarke, H. T. and Behr. L. D.: "Organic Syntheses," Coll. 2, 19, 1943.

D, L-α-氨基己二酸 Ⅱ-1(1)-0005

D, L-α-Aminoadipic acid

别名 DL-2-氨基己二羧酸 DL-2-Aminohexanedoic acid

结构式 $HOOC—(CH_2)_3—CH(NH_2)—COOH$

分子式 $C_6H_{11}NO_4$ **分子量** 161.16

理化性质 结晶固体。在沸水中，自由酸环化为哌啶酮羧酸。溶于水；微溶于乙醇、乙醚。

理化参数 熔点165～202℃（分解）范围内变动。25℃ $pK_1 2.14, pK_2 4.21, pK_3 9.77$。

制备方法[1]

$$\underset{(\text{I})}{HOOC(CH_2)_4COOCH_2CH_3} \xrightarrow{Br_2} \underset{(\text{II})}{CH_3CH_2OOC(CH_2)_3CH(Br)COOCH_2CH_3}$$

$$\xrightarrow{NH_3} \xrightarrow[C_5H_5N]{HCl} \underset{(\text{III})}{HOOC-(CH_2)_3-CH(NH_2)-COOH}$$

174g己二酸单乙酯（Ⅰ）和300mL磺酰氯混合，回流2小时，生成的己二酸单乙酯酰氯与溴反应。加溴168g，在6～8小时内滴加完毕，其间保持温和的回流。混合物放置数小时，小心地倒入500mL无水乙醇中，得到的乙醇溶液倒入水中，用乙醚抽提三次。合并乙醚抽提液，相继用水、稀碳酸氢钠溶液、水洗涤，无水硫酸钠干燥。蒸去乙醚，油状残渣（Ⅱ）经真空蒸馏纯化（133～135℃，650Pa）。取10个200～250mL耐压玻璃瓶，每瓶放入4g（Ⅱ），加90mL无水氨饱和的无水乙醇，60～65℃保温6天。合并所有的反应物在真空下浓缩至很小体积，加入100mL水，蒸发至干。残渣与40mL 12mol/L盐酸回流4小时，减压蒸去酸性溶剂。在5℃放置数小时后，将产生的DL-α-氨基己二酸（Ⅲ）滤出，用50%乙醇洗涤至不含氯离子。产物可用水重结晶。

贮存 冷藏（0～5℃）。

参 考 文 献

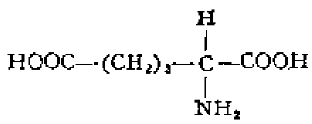
[1] Waalkes, T. P., Fones, W. S. and White, J.; *J. Am. Chem. Soc.*, 72 5760(1950).

L-α-氨基己二酸　　Ⅲ-1(1)-0006

L-α-Aminoadipic acid

别名 L-2-氨基己二羧酸　L-2-Aminohexanedoic acid

结构式



分子式 $C_6H_{11}NO_4$　　**分子量** 161.16

理化性质 结晶。溶于水；微溶于乙醇、乙醚。在沸水中，自由酸环化为哌啶酮羧酸。

理化参数 熔点206℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}$ +3.2°（$C=2$，水），+25.0°（$C=2$，5mol/L盐酸），$[\alpha]_D^{23}$ +23°（$C=2$，6mol/L盐酸）。

制备方法[1] 将161g DL-α-氨基己二酸（Ⅰ）溶于500mL4mol/L 氢氧化钠中，冷至5℃。在搅拌及冷却条件下，交替滴加110g氯乙酰氯及600mL 4mol/L氢氧化钠。反应物以盐酸酸化至pH～1后，用乙酸乙酯萃取几次。合并萃取液，经无水硫酸钠干燥后，吹干空气流蒸发至干。残渣溶于无水乙醚中，冷却，N-氯乙酰-DL-α-氨基己二酸结晶（Ⅱ）析出。在乙酸乙酯中重结晶。23.7g（Ⅱ）溶于约800mL水中，用2mol/L氢氧化锂调至pH7.0～7.2，然后，加水至1L，加入1g酰化酶Ⅰ粉末，搅匀，38℃保温24小时。滴加5mol/L盐酸至pH 3.0，加活性炭脱色。过滤，滤液在30℃减压浓缩至约100mL。浓缩液再用活性炭处理一次。过滤，滤液加入9倍容积乙醇。粗L-α-氨基己二酸结晶出来，母液可用于制备D-α-氨基己二酸。上述L-α-氨基己二酸结晶粗品溶于尽量少的沸水中，加入沸乙醇至溶液出现混浊，冷却后得L-α-

氨基己二酸纯品。

贮存 室温。

参 考 文 献

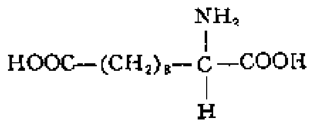
〔1〕 Greenstein, J. P., Birnbaum, S. M. and Otey, M. C.; *J. Am. Chem. Soc.*, 75, 1994(1953).

D-α-氨基己二酸 Ⅱ-1(1)-0007

D-α-Amino odipic ocid

别名 D-2-氨基己二羧酸 D-2-Aminohexanedoic acid

结构式



分子式 $C_6H_{11}NO_4$ **分子量** 161.16

理化性质 溶于水，微溶于乙醇、乙醚。在沸水中，自由酸环化为哌啶酮羧酸。

理化参数 $[\alpha]_D^{25}-25°$($C=2$，6mol/L盐酸)。

制备方法[1] DL-α-氨基己二酸经氯乙酰化及酰化酶拆分，分离L-α-氨基己二酸后的母液〔参阅L-α-氨基己二酸(Ⅱ-1(1)-0006)的制备方法〕用硫酸调至pH1.2，减压浓缩至干。用丙酮反复萃取残渣中的氯乙酰-D-α-氨基己二酸。丙酮萃取液减压浓缩至干，残渣溶于2mol/L盐酸中，回流2小时。减压蒸去过量的盐酸。残渣溶于少量水中，以吡啶调至pH 3.0，加入乙醇至乙醇浓度达90%。析出的D-α-氨基己二酸粗品在沸水-沸乙醇中重结晶。

贮存 室温。

参 考 文 献

〔1〕 Greenstein, J. P., Birnbaum, S. M. and Otey, M. C.; *J. Am. Chem. Soc.*, 75, 1994(1953).

DL-α-氨基丁酸 Ⅱ-1(1)-0008

DL-α-Amino butyric acid

别名 DL-2-氨基正丁酸DL-2-Amino-*n*-butyric acid, DL-Butyrine

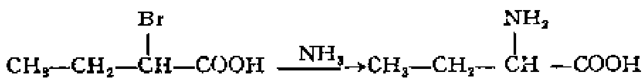
结构式 $CH_3CH_2CH(NH_2)COOH$

分子式 $C_4H_9NO_2$ **分子量** 103.12

理化性质 自水中得片状结晶，自水-乙醇中得纤维状结晶。溶于水(28g/100mL水)；微溶于乙醇；不溶于醚。

理化参数 熔点283～299℃(分解)。25℃pK_1 2.29，p$K_2$9.83。

制备方法[1] 140mL水中加入450g碳酸铵，逐步



加热至55℃。摇荡后冷却至40℃，加入410mL 氨水。167g α-溴代丁酸在30分钟内加入上述溶液，温度维持在40℃。40℃ 放置几小时后，减压浓缩，DL-α-氨基丁酸结晶析出。过滤，结晶用少量甲醇洗涤。滤液及洗涤液可合并浓缩，再回收一些DL-α-氨基丁酸。结晶合并后

用尽量少的热水溶解，活性炭脱色，趁热过滤。澄明的滤液趁热加入过量热乙醇。DL-α-氨基丁酸重结晶产率约60%。

贮存 室温。

参 考 文 献

〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 1831, 1961.

L-α-氨基丁酸　　Ⅱ-1(1)-0009

L-α-Aminobutyric acid

别名 L-2-氨基正丁酸 L-2-Amino-n-butyric acid; L-Butyrine

结构式

$$CH_3-CH_2-\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}}-COOH$$

分子式 $C_4H_9NO_2$　　**分子量** 103.12

理化性质 自乙醇-水中得白色片状结晶。升华。溶于水、冰乙酸。

理化参数 熔点292℃（分 解）。$[\alpha]_D^{25}$ +20.5°(C=1～2，5mol/L盐酸)，+9.3°(C=1～2，水)，+42.0°(C=1～2，冰乙酸)。

制备方法[1] 103.1g DL-α-氨基丁酸与 900mL 冰乙酸混和，加热至沸（防潮）。冷却 1～2 分钟，细心地分批加入150mL乙酸酐。加毕，将溶液煮沸 2 分钟，冷却至室温。40℃减压浓缩至浆，加入水再在40℃减压浓缩。反复加水蒸干多次，最后加入苯，减压浓缩至干。浆状残渣溶于最低量的无水乙酸乙酯，冰冷之。接种晶种并摩擦，得乙酰DL-α-氨基丁酸（Ⅰ）结晶。5℃放置18小时，抽气过滤，结晶以无水乙醚洗去最后一点黄色，25℃真空干燥。14.5g(Ⅰ)悬浮于800mL水，加入 1～2 滴酚红指示剂。加入浓氨水pH7.0～7.2，（Ⅰ）溶解。以水稀释至1L。20mg猪肾酰化酶Ⅰ粉加于上述溶液，搅拌均匀。38℃保温 24小时。补加5mg酰化酶Ⅰ，38℃再保温16小时。加入10mL冰乙酸及1g活性炭。过滤，滤渣以少量水洗涤。合并滤液及洗涤液，30℃减压浓缩至约50mL，加入乙醇至乙醇浓度为 80%，L-α-氨基丁酸结晶。5℃放置 6 小时后，过滤。结晶以乙醇，乙醚依序洗涤干燥。母液及洗涤液合并可用于制备D-α-氨基乙酸。结晶溶于最小量的热水中，加入活性炭处理，过滤，滤液必须如水一样清晰，如果不澄明，加入更多的活性炭并煮沸，然后过滤。澄明的滤液加热至沸，细心地加入无水乙醇至乙醇浓度为80%。5℃冷却几小时后，抽气过滤，L-α-氨基丁酸结晶以乙醇，乙醚先后洗涤，78℃，133Pa压力下真空干燥。

贮存 室温。

参 考 文 献

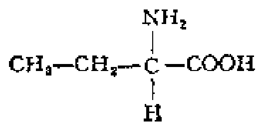
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2396, 1961.

D-α-氨基丁酸　　Ⅱ-1(1)-0010

D-α-Aminobutyric acid

别名 D-2-氨基正丁酸 D-2-Amino-n-butyric acid; D-Butyrine

结构式



分子式 $C_4H_9NO_2$ **分子量** 103.12

理化性质 自乙醇-水中得白色片状结晶。升华。溶于水。

理化参数 熔点292℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}-20.5°$（$C=1\sim2$，5mol/L盐酸），$-9.3°$（$C=1\sim2$，水）。

制备方法[1] 乙酰DL-α-氨基丁酸经酰化酶拆分，分去L-α-氨基丁酸后的母液〔参阅L-α-氨基丁酸（Ⅱ-1(1)-0009)制备方法〕以子空气表面吹干溶剂，厚浆状残渣溶于50mL冷水，冰冷下加入2.5mol/L硫酸至刚果红试纸呈深蓝色。30℃减压浓缩至干。残渣以100mL热丙酮萃取，萃取5次。合并萃取液，过滤，滤液以干空气吹干。残渣溶于50mL2mol/L盐酸，回流2小时，40℃减压浓缩至干。残渣溶于50mL水，加入重蒸馏的苯胺至刚果红不显蓝色。加乙醇至80%，D-α-氨基丁酸结晶。5℃放置数小时后，过滤，结晶以乙醇、乙醚先后洗涤后干燥。D-α-氨基丁酸在水-乙醇中重结晶（参阅L-α-氨基丁酸（Ⅱ-1(1)-0009)的制备方法)。

贮存 室温。

参考文献

〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2396, 1961.

γ-氨基丁酸 Ⅱ-1(1)-0011

γ-Aminobutyric acid

别名 4-氨基正丁酸 4-Amino-*n*-butyric acid; Piperidinic acid; Piperidic acid; GABA

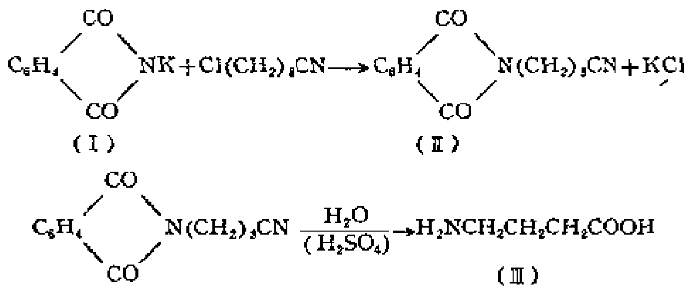
结构式 $CH_2(NH_2)-(CH_2)_2-COOH$

分子式 $C_4H_9NO_2$ **分子量** 103.12

理化性质 水-乙醇中得单斜片状结晶或针状结晶。易溶于水；不溶于乙酸、乙醇及苯。

理化参数 熔点203℃（分解）。25℃ pK_1 4.03，$pK_2$10.56

制备方法[1]



在带有空气冷凝管的1L圆底烧瓶中放入100g粉末邻苯二甲酰亚胺钾（Ⅰ）和52g γ-氯丁腈，在油浴上150～180℃加热1～1.5小时。放冷，用沸蒸馏水反复抽提直至抽提液中无氯离子存在。冷却固化(Ⅱ)，尽量倒干残余的水。加入140mL浓硫酸，装上回流冷凝管，在油浴上慢慢加热至溶。从冷凝管小心地加入200mL水，猛烈回流3小时，冷却。放置过夜，过滤，滤液加入1L蒸馏水，分批加入过量碳酸钡，在蒸汽浴上蒸发近干。残渣加入1L蒸馏

水混匀，再次蒸发。再一次将残渣与1L蒸馏水搅拌均匀，在布氏漏斗上过滤。滤渣用热水洗涤3次，每次200mL。合并滤液与洗涤液，蒸汽浴上浓缩至200mL。加入2g活性炭，抽气过滤，用少量热蒸馏水洗涤活性炭。滤液与洗涤液合并，浓缩到出现结晶（约75mL），加入375～500mL乙醇。所得结晶是γ-氨基丁酸（Ⅱ），以乙醇洗涤后干燥。溶于少量水，加5～7倍体积无水乙醇重结晶。

贮存 室温。

参 考 文 献

〔1〕 Dewitt, C. C.: "Organic Syntheses", Coll. 2, 25, 1943.

α-氨基-β-羟戊酸 Ⅱ-1(1)-0012

α-Amino-β-hydroxyvaleric acid

别名 β-羟基正缬氨酸 β-Hydroxynorvaline

结构式 $CH_3—CH_2—CH(OH)—CH(NH_2)—COOH$

分子式 $C_5H_{11}NO_3$ **分子量** 133.17

理化性质 自稀乙醇水溶液中得白色结晶。溶于水；微溶于乙醇。有二非对映异构物。

理化参数 熔点244℃（分解）。

制备方法[1]

$$\underset{(\mathrm{I})}{CH_3CH_2CH{=}CHCOOH} \xrightarrow{Br_2} \underset{(\mathrm{II})}{CH_3CH_2CH(OH)CH(Br)COOH} \xrightarrow{NH_3} \underset{(\mathrm{III})}{CH_3CH_2CH(OH)CH(NH_2)COOH}$$

27g乙基丙烯酸（Ⅰ）溶于800mL水中，在0～5℃通入溴-空气混合物（空气经过置于洗气瓶中的45g溴）。调节输入速度使溶液无色或呈浅黄色。待全部溴耗完，继续通入空气驱尽过量的溴。上层清液倾出，用低沸点石油醚萃取2次，每次150mL。水层用氯化钠饱和，以乙醚萃取3次，每次200mL。乙醚层以无水硫酸镁干燥。减压蒸去溶剂，油状残渣置五氧化二磷真空干燥器内，几天后结晶。所得结晶α-溴-β-羟基正戊酸（Ⅱ）在苯-石油醚中重结晶。26g(Ⅱ)溶于200mL 28%氨水中，冷室放置数天。减压浓缩，残渣溶于少量热水，加入10倍容积热的无水乙醇。冷却，5℃放置过夜，滤出结晶α-氨基-β-羟基正戊酸（Ⅲ），用无水乙醇，乙醚洗涤，在水-乙醇中重结晶。

贮存 室温。

参 考 文 献

〔1〕 Buston, H. W., Churchman, J. and Bishop, J.: *J. Biol. Chem.*, 204, 665(1953).

α-氨基异丁酸 Ⅱ-1(1)-0013

α-Amino isobutyric acid

别名 α-甲基丙氨酸 α-Methylalanine；α-氨基-α-甲基丙酸 α-Amino-α-methyl propionic acid

结构式 $(CH_3)_2C(NH_2)COOH$

分子式 $C_4H_9NO_2$ **分子量** 103.12

理化性质 无色棱镜片状或棱柱形结晶。溶于水（25℃，13.72g/100mL水）、80%乙醇（25℃，0.483/100mL 80%乙醇）；不溶于乙醇、乙醚和苯。升华。

理化参数 熔点200℃（分解）。25℃ $pK_1$1.236，$pK_2$10.21。

制备方法[1]

$$\underset{(\text{I})}{CH_3COCH_3} + HCN \longrightarrow \underset{(\text{II})}{CH_3C(OH)(CN)CH_3} \xrightarrow{NH_3} \underset{(\text{III})}{CH_3C(NH_2)(CN)CH_3}$$

$$\xrightarrow{HCl} \underset{(\text{IV})}{(CH_3)_2C(NH_2)COOH}$$

13g氰化钾和10.6g氯化铵混和，溶于少量水中，再加11.6g丙酮（Ⅰ）。在耐压烧瓶中50～60℃加热5小时。冷却反应物，加入等体积浓盐酸。0℃通入氯化氢气体至饱和，室温放置数小时后用水稀释一倍。回流2小时，经活性炭处理后，溶液减压浓缩至干。用热乙醇抽提残渣几次，合并抽提液减压浓缩至干。残渣溶于水，加入略为过量的碳酸银。滤出生成的氯化银，滤液以乙酸酸化，通入硫化氢气体至饱和。过滤，滤液减压浓缩至α-氨基异丁酸（Ⅳ）结晶。放冷。在水中重结晶。

贮存 室温。

参 考 文 献

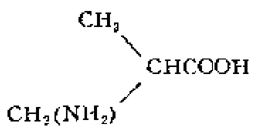
〔1〕 Clarke, H. T. and Bean, H. J.: "Organic Syntheses", Coll. 2, 29, 1943.

DL-β-氨基异丁酸 Ⅱ-1(1)-0014

DL-β-Amino-isobutyric acid

别名 DL-α-甲基-β-丙氨酸 DL-α-Methyl-β-alanine

结构式



分子式 $C_4H_9NO_2$ **分子量** 103.12

理化性质 无色棱柱结晶。溶于水。升华。

理化参数 熔点 177～179℃。

制备方法[1] 24.7g α-腈丙酸乙酯，7.3mL浓硫酸和290mL冰乙酸混合。加入2.2g氧化铂，室温3.58MPa压下力氢化75分钟。倾出上层液体，水浴上减压蒸去乙酸。残渣加水减压蒸干。反复加水减压蒸干多次。加入氢氧化钡溶液除去硫酸根。过滤，滤液蒸发至出现结晶DL-β-氨基异丁酸，在水中重结晶。

贮存 室温。

参 考 文 献

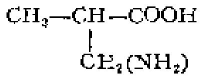
〔1〕 Pollack, M. A.: *J. Am. Chem. Soc.*, 65, 1335(1943).

L-β-氨基异丁酸 Ⅱ-1(1)-0015

L-β-Amino isobutyric acid

别名 L-α-甲基-β-丙氨酸 L-α-Methyl-β-alanine

结构式



分子式 $C_4H_9NO_2$ **分子量** 103.12

理化性质 乙醇中得长方形片状结晶。溶于水。升华。

理化参数 熔点 192～194℃。$[\alpha]_D^{23}+15.4°$($C=1$，水)。

制备方法[1] 乙酰-D-氨基异丁酸辛可宁盐结晶后的母液（参阅D-β-氨基异丁酸（Ⅱ-1(1)-0016）制备方法）浓缩至60mL。放冷，过滤，滤渣弃去。滤液浓缩至干。油状残渣溶于100mL水，加入10mL浓氨水。冷却，过滤。滤液以三氯甲烷洗2次，以浓盐酸调至pH1，然后加氯化钠至饱和。用乙酸乙酯萃取6次，每次200mL。萃取液经无水硫酸钠干燥，减压浓缩至干。残渣为乙酰-L-氨基异丁酸(Ⅰ)。15.6g(Ⅰ)与200mL 2moL/L盐酸回流3小时，减压蒸去盐酸。残渣在98%乙醇（100mL）中重结晶，得纯的L-(+)-氨基异丁酸盐酸盐(Ⅱ)。7.1g(Ⅱ)溶于30mL水，通过Amberlite CG-120(H^+)阳离子交换树脂柱(2×17cm)，先以100mL水淋洗，然后用120mL 3mol/L氢氧化铵溶液洗脱。收集最后的50mL，减压浓缩至干。残渣在150mL 99%乙醇中重结晶，得4.2g L-(+)-β-氨基异丁酸。

贮存 室温。

参 考 文 献

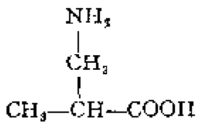
〔1〕 Kakimoto, r. and Armstrong, M. D.: *J. Biol. Chem.*, 236, 3283(1961).

D-β-氨基异丁酸 Ⅱ-1(1)-0016

D-β-Amino isobutyric acid

别名 D-α-甲基-β-丙氨酸 D-α-Methyl-β-alanine

结构式



分子式 $C_4H_9NO_2$ **分子量** 103.12

理化性质 自95%乙醇中得长方形片状结晶。溶于水。升华。

理化参数 熔点 194～196℃。$[\alpha]_D^{27}-15.3°$($C=1$，水)

制备方法[1] 52.1g DL-β-氨基异丁酸溶于100mL水。冷却搅拌下加入61.3g乙酸酐和637mL 2mol/L氢氧化钠。整个滴加过程需约90分钟，反应液pH维持在10～11。反应物室温放置1小时后以浓盐酸酸化至pH1，然后加氯化钠至饱和。以乙酸乙酯萃取其中的乙酰-氨基异丁酸6次，每次850mL。合并萃取液，浓缩至干。残渣在180mL热的二氯甲烷中重结晶，得49.2g乙酰-氨基异丁酸(Ⅰ)。14.76g(Ⅰ)与30g辛可宁溶于300mL热的异丙醇，冰冷过夜，生成的结晶乙酰-氨基异丁酸辛可宁盐(Ⅱ)在异丙醇中重结晶。(Ⅱ)溶于50mL水，加入10mL浓氨水。溶液冷却，过滤。滤渣以水洗涤3次，每次20mL。合并滤液及洗涤液，以三氯甲烷洗2次，每次100mL。以浓盐酸调至pH1，加入氯化钠使之饱和。用乙酸乙酯萃取其中的乙酰-D-氨基异丁酸6次，每次200mL。合并萃取液，用无水硫酸钠干燥，减压浓缩至干。乙酰

-D-氨基异丁酸(Ⅱ)在80mL二氯甲烷中重结晶，得4.14g。13.0g(Ⅱ) 与200mL 2mol/L盐酸回流3小时，减压蒸去盐酸。残渣溶于20mL水，通过Amberlite CG-120(H^+)阳离子交换树脂柱(2×22cm)。先以100mL水淋洗，然后用3mol/L氢氧化铵洗脱。弃去前面的75mL，收集随后的50mL，浓缩至干。残渣在95%乙醇中重结晶，得6.55g纯的D-β-氨基异丁酸。

贮存 室温。

参 考 文 献

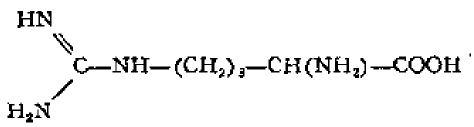
〔1〕 Kakimoto, Y. and Armstrong, M. D.: *J. Biol. Chem.*, 236 3283(1961).

DL-精氨酸 Ⅱ-1(1)-0017

DL-Arginine

别名 DL-蛋白氨基酸；DL-胍基戊氨酸；DL-α-Amino-δ-guanidinovaleric acid；DL-N-8-Amidino ornithine

结构式



分子式 $C_6H_{14}N_4O_2$ **分子量** 174.20

理化参数 熔点238℃(分解)。25℃ pK_1 1.82，pK_2 8.99，pK_3 12.48

制备方法[1] 168.5g DL-鸟氨酸溶于1000mL水，热至80℃，以过量的碳酸铜处理。过滤，滤液中加入121.6g O-甲基异脲，冷却下加入540mL冰冷的2mol/L氢氧化钠。溶液室温放置5天，以盐酸酸化，通入硫化氢至饱和。滤去硫化铜，并以水洗之。合并滤液及洗涤液，通入空气排除硫化氢，加入热的8-羟-5,7-二硝基-2-萘磺酸溶液(270g溶于1600mL水)。冰冷之，抽气过滤，结晶以稀的8-羟-5,7-二硝基-2-萘磺酸溶液洗后干燥。上述结晶是DL-精氨酸的单8-羟-5,7-二硝基-2-萘磺酸盐(Ⅰ)。100g(Ⅰ)加入200mL浓盐酸，水浴上加热并搅拌1小时。冷却，抽气过滤，滤渣以浓盐酸洗涤。合并滤液及洗涤液，减压浓缩成厚浆，以水稀释后再减压浓缩，重复一次后残渣溶于少量水中，加入过量的苯胺。再加入乙醇，DL-精氨酸沉淀。

贮存 室温。

参 考 文 献

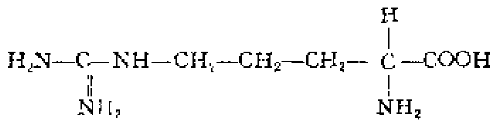
〔1〕 Kurtz, A. C.: *J. Biol. Chem.*, 180, 1253(1949).

L-精氨酸 Ⅱ-1(1)-0018

L-Arginine

别名 L-蛋白氨基酸；L-胍基戊氨酸；L-α-Amino-δ-guanidinovaleric acid；L-N-8-Amidino ornithine

结构式



分子式 $C_6H_{14}N_4O_2$ **分子量** 174.20

理化性质 自水中得棱柱形结晶（含2分子水）；乙醇中得无水片状结晶。溶于水；（21℃，15g/100mL水）；不溶于乙醇、乙醚。

理化参数 熔点 105℃（失水），238℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}+27.6°$（$C=2.0$，2.5mol/L盐酸），$+12.5°$（$C=2.0$，水）。

制备方法[1] 明胶500g以1.5L浓盐酸在12L烧瓶中回流8小时。水解液减压浓缩成浆状，加入水再浓缩，如此反复2次除去过量盐酸。最后浓缩至1L，冷至0℃，加入40%氢氧化钠至pH9，在5℃，将225mL新蒸苯甲醛分四次倒入。每次加后，剧烈搅拌。继续冷却10小时，抽气过滤。得到的结晶用冷水，1:2甲醇：乙醚混合液，乙醚依序洗涤，产量约40g。产物苯亚甲酰-L-精氨酸悬浮于35mL盐酸中，在水浴上加热30分钟，不时搅拌之。冷却，用乙醚萃取苯甲醛三次。水溶液以活性炭处理，趁热过滤，滤液减压浓缩至小体积。加吡啶至pH6，加无水乙醇至90%，冷却，滤出生成的L-精氨酸盐酸盐，用乙醇洗涤。溶于水中，再加乙醇至90%进行重结晶。最终产物经乙醇、乙醚洗涤后、干燥，产量约28g。将上述精氨酸盐酸盐溶于最低量室温水中，加入等摩尔量2mol/L氢氧化锂，加入足量乙醇至80%。5℃放置24小时后，迅速滤出精氨酸，以乙醇洗涤。溶于不含二氧化碳的水中，加乙醇进行重结晶。精氨酸溶液应尽量避免暴露于空气中，以免生成精氨酸碳酸盐。不过干的精氨酸结晶却是稳定的。

贮存 室温。

参 考 文 献

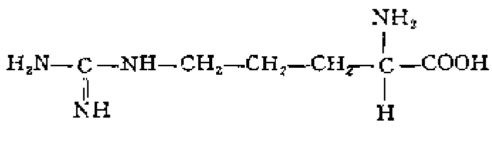
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 1844, 1961.

D-精氨酸 Ⅱ-1(1)-0019

D-Arginine

别名 D-蛋白氨基酸；D-胍基戊氨酸；D-α-Amino-δ-guanidinovaleric acid；
D-N-δ-Amidino ornithine

结构式



分子式 $C_6H_{14}N_4O_2$ **分子量** 174.20

理化参数 熔点238℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}-27.6°$（$C=2.0$，5mol/L盐酸），$-12.5°$（$C=2.0$，水）。

制备方法[1] 210.5g L-精氨酸盐酸盐和168g碳酸氢钠，1L水混和。冷至5℃，滴加125mL乙酸酐，搅拌下10分钟内加毕，继续搅拌20分钟，同时滴加25%氢氧化铵调节pH为8.0。溶液在5℃放置12～18小时，生成的乙酰-L-精氨酸（含2分子水）（Ⅰ）以少量冰水洗

涤，并在少量热水中重结晶。250g（Ⅰ）溶于2L温水，水浴内冷却。1250mL乙酸酐分成10～12批投入。38℃保温24小时。减压浓缩至干。残渣3次溶于水，每次浓缩至干。最后残渣溶于500mL水，过滤，滤液以2L丙酮处理。生成的乙酰-DL-精氨酸（含2分子水）（Ⅱ）滤出后、依序以70%丙酮、纯丙酮、乙醚洗涤。25.2g(Ⅱ)溶于800mL水，用稀氢氧化钠溶液调至pH7.2，加水至1L。搅拌下加入60mg酰化酶Ⅰ，38℃保温24小时后，再加10mg酰化酶Ⅰ，继续保温12小时。加入乙酸将溶液pH降至5，通过活性炭层滤去蛋白质。滤液加入几滴辛醇，减压浓缩至约50mL。5℃放置几天后，出现乙酰-D-精氨酸结晶（含2分子水）(Ⅲ)。滤出结晶，以冷水洗2次后干燥。10g(Ⅲ)与100mL 2mol/L盐酸回流2小时，减压浓缩成浆。浆状物溶于微量冷水，加吡啶至pH6.0，加入无水乙醇至乙醇溶液浓度为80%。冰冷及摩擦，D-精氨酸盐酸盐结晶析出，以乙醇及乙醚洗涤之，得成品。

贮存　室温。

参 考 文 献

[1] Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol 3, J. Wiley and Sons, Inc. 1850, 1961.

DL-天冬酰胺　　Ⅱ-1(1)-0020

DL-Asparagine

别名　DL-天门冬酰胺；DL-Aspartic acid β-monoamide；DL-α-Amino-succinamic acid

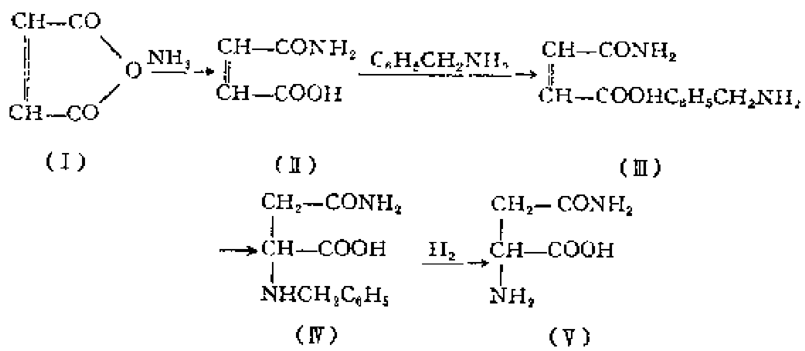
结构式　$H_2N—CO—CH_2—CH(NH_2)—COOH$

分子式　$C_4H_8N_2O_3$　　**分子量**　132.12

理化性质　无色或白色三斜片状结晶（含1分子水）。在100℃水中稳定，100℃ 5%硫酸中，5分钟水解23%。溶于水、氨水；不溶于乙醚。

理化参数　熔点213～15℃（分解）。25℃ pK_1 2.1，pK_2 8.84。

制备方法[1]



3g顺丁烯二酸酐（Ⅰ）溶于25mL无水二氧六环，搅拌下通入氨，立即有白色沉淀产生。继续通氨至氨吸收达理论值。滤出顺丁烯酰胺酸(Ⅱ)，以二氧六环洗涤后干燥。3g(Ⅱ)悬浮于50mL二氧六环与3g苄胺中回流。几分钟后，大部分物质溶解，不过以后又有白色结晶(Ⅲ)沉淀出来。回流35分钟，冷却后过滤。5g(Ⅲ)在二甲苯中回流1小时，产物(Ⅳ)在水中重结晶。4g(Ⅳ)溶于50mL冰乙酸及20mL水中，加入0.3g氯化钯—炭催化剂（30%），60℃低压催化氢化3小时，过滤滤液蒸去溶剂得DL-天冬酰胺。

贮存 室温。

参 考 文 献

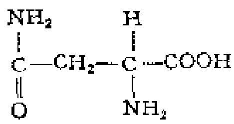
〔1〕 Frankel, M., Liwschitz, Y. and Amiel, Y.: *J. Am. Chem. Soc.*, 75, 330(1953).

L-天冬酰胺 Ⅱ-1(1)-0021

L-Asparagine

别名 L-天门冬酰胺；L-Aspartic acid β-monoamide；L-α-Amino-succinamic acid.

结构式



分子式 $C_4H_8N_2O_3$ **分子量** 132.12

理化性质 无色菱形结晶。溶于水、氨水；微溶于乙醇；不溶于乙醚。

理化参数 熔点 236℃（分解）（一水化物）。$[\alpha]_D^{25}+28.6°$（$C=2$，1mol/L盐酸），$-5.6°$（$C=2$，水）。

制备方法[1] 将白羽扇豆置于筛上，避光及高湿度下发芽。待豆生长叶片时取根研磨成浆。水蒸汽浴上加热，蛋白质凝固。加60℃热水混匀，冷却后用乙酸调至pH<6。经硅藻土过滤，滤液减压浓缩成浆，趁热转移到离心管内，残存部分用热水洗入离心管。冷室放置3天，不时搅拌。低温离心，分出粗L-天冬酰胺结晶。上清液弃去。粗结晶用水洗涤3次，每次洗后离心。粗结晶溶于沸水，活性炭处理后在5℃放置结晶，得纯L-天冬酰胺，以冷水洗涤后干燥。

贮存 室温。

参 考 文 献

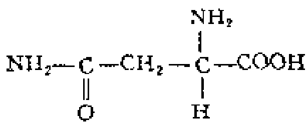
〔1〕 Vickery, H. B., Pucher, G. W. and Deuber, C. G.: *J. Biol. Chem.*, 145, 45(1942).

D-天冬酰胺 Ⅱ-1(1)-0022

D-Asparagine

别名 D-天门冬酰胺；D-Aspartic acid β-monoamide；D-α-Amino-succinamic acid

结构式



分子式 $C_4H_8N_2O_3$ **分子量** 132.12

理化性质 无色菱形结晶。溶于水；微溶于乙醇。有甜味。

理化参数 熔点 215℃（分解）（一水化物）。$[\alpha]_D^{25}-28.6°$（$C=2$，1mol/L 盐酸），$+5.6°$（$C=2$，水）。

制备方法[1] 在黑暗处生长的巢菜属植物，当茎长至40～60cm时收割。磨碎压榨，收集流出的汁，煮沸后过滤。滤液浓缩至小体积，放冷L-天冬酰胺结晶。过滤，母液进一步浓缩，

至小体积，放置数日。D-天冬酰胺结晶析出，冷水洗涤后干燥。6500kg意大利巢菜约可得100g D-天冬酰胺。

贮存 室温。

参 考 文 献

〔1〕 Piutti, A.: *Compt. rend.*, 103, 134(1886).

DL-天冬氨酸 Ⅱ-1(1)-0023

DL-Aspartic acid

别名 DL-天门冬氨酸；DL-α-Aminosuccinic acid

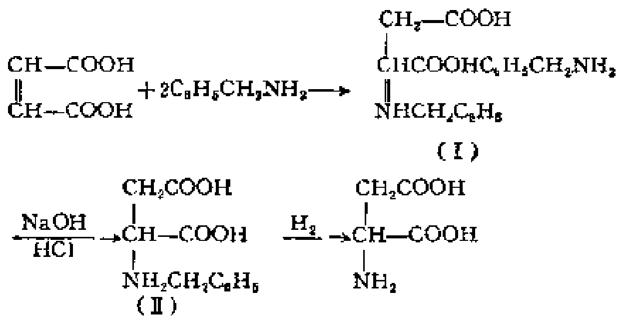
结构式 HOOC—CH_2—CH(NH_2)—COOH

分子式 $C_4H_7NO_4$ **分子量** 133.10

理化性质 无色单斜棱柱形结晶。溶于水；微溶于75%乙醇；不溶于乙醚。

理化参数 熔点278～280℃。25℃pK_1 1.99，pK_2 3.90，pK_3 9.90。

制备方法[1]



49g顺丁烯二酸酐与150mL水沸腾回流0.5小时。冷却下细心地加入107g苄胺。继续回流1小时。冷却，加入丙酮使沉淀完全。产物N-苄基-DL-天冬氨酸苄胺盐(Ⅰ)在乙醇中重结晶。50g(Ⅰ)溶于60mL 15%氢氧化钠溶液，以乙醚萃取苄胺多次后，碱性溶液用盐酸酰化至刚果红试纸呈酸性反应。冷却，分离出白色结晶N-苄基-DL-天冬氨酸(Ⅱ)。5g(Ⅱ)悬浮于110mL冰乙酸及钯-炭催化剂（含30%氯化钯）0.3g在60℃低压催化氢化3小时。反应物冷却后过滤。滤渣以冷甲酸洗涤。合并滤液及洗涤液，蒸去溶剂得DL-天冬氨酸。

贮存 室温。

参 考 文 献

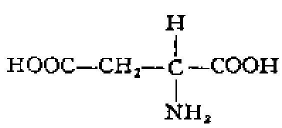
〔1〕 Frankel, M., Liwschitz, Y. and Amiel, Y.: *J. Am. Chem. Soc.*, 75, 330(1953).

L-天冬氨酸 Ⅱ-1(1)-0024

L-Aspartic acid

别名 L-天门冬氨酸；L-α-Aminosuccinic acid

结构式



分子式 $C_4H_7NO_4$ **分子量** 133.10

理化性质 无色菱形片状小结晶。溶于水，微溶于醇。

理化参数 熔点 269～271℃。$[\alpha]_D^{25}+25.4°$($C=2$,5mol/L盐酸)，$+5.05°$($C=2$,水)。

制备方法[1] 130g DL-天冬氨酸溶于500mL4mol/L氢氧化钠。冷至5℃，交替加入135.5g氯乙酰氯和600mL 2mol/L氢氧化钠，溶液始终保持在碱性。反应结束，加入2.5mol/L硫酸至刚果红试剂呈深蓝色，再加入同样量的2.5mol/L 硫酸后，溶液减压蒸干，以温热丙酮萃取残渣数次。合并萃取液，过滤，滤液用干空气吹去溶剂。加入无水乙酸乙酯及乙醚，摩擦瓶壁促使结晶。结晶氯乙酰-DL-天冬氨酸溶于温热乙酸乙酯，活性炭处理，空气流吹干溶液，残渣以无水乙醚洗涤。20.95g上述重结晶后的氯乙酰-DL-天冬氨酸溶于800mL水，以2mol/L 氢氧化锂调至 pH7.0～7.2，然后加水稀释至 1L。肾酰化酶Ⅱ 350mg边搅拌边加入，38℃保温24小时。再加50mg酰化酶Ⅱ并继续保温12小时。滴加5mol/L盐酸至pH3.0，加入1g活性炭，过滤。滤液在30℃真空浓缩至约100mL，活性炭处理后，加无水乙醇至90%（乙醇浓度）。生成的沉淀是L-天冬氨酸粗品，抽气过滤，以乙醇及乙醚洗涤后干燥。母液可用于制备D-天冬氨酸。L-天冬氨酸粗品溶于尽量少的沸水，加入活性炭处理，趁热过滤。滤液煮沸，加入沸腾的无水乙醇至刚出现混浊。冷却，L-天冬氨酸结晶析出。

贮存 室温。

参 考 文 献

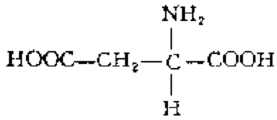
〔1〕 Creenstein, T. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc, 1874, 1961.

D-天冬氨酸 Ⅱ-1(1)-0025

D-Aspartic acid

别名 D-天门冬氨酸；D-α-Aminosuccinic acid

结构式



分子式 $C_4H_7NO_4$ **分子量** 133.10

理化性质 在水中结晶。溶于水、盐酸，不溶于乙醇、乙醚。

理化参数 熔点 251℃。$[\alpha]_D^{25}-25.4°$($C=2$,5mol/L盐酸)，$-5.05°$($C=2$, 水)。

制备方法[1] DL-天冬氨酸氯乙酰化后，经酰化酶Ⅱ拆分，L-天冬氨酸结晶后的母液〔参阅L-天冬氨酸（Ⅱ-1(1)-0024）制备方法〕以硫酸酸化至pH1.2，真空浓缩至干。残渣以丙酮多次萃取其中的氯乙酰-D-天冬氨酸。萃取液减压浓缩至干。残渣溶于2mol/L盐酸，回流2小时。真空浓缩除去过量的盐酸。残渣溶于少量水，加吡啶调至pH3.0，再加乙醇至乙醇浓度为90%。分出的D-天冬氨酸在沸水中溶解，加入沸无水乙醇至刚出现混浊，放冷后，析出D-天冬氨酸结晶。

贮存 室温。

参 考 文 献

〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons,

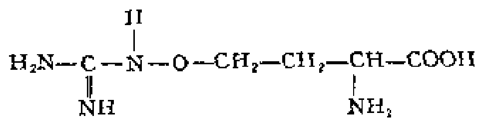
Inc. 1876, 1961.

L-刀豆氨酸 Ⅱ-1(1)-0026

L-Canavanine

别名 *α*-Amino-(*O*-guanidyl)-*γ*-hydroxybutyric acid; *α*-Amino-*γ*-guanidioxy-*n*-butric acid

结构式



分子式 $C_5H_{12}N_4O_3$ **分子量** 176.19

理化性质 无色结晶。易溶于水。

理化参数 熔点184℃。$[\alpha]_D^{20}$ +7.9°(C=3.2); p$K_1$2.50, p$K_2$6.60, p$K_3$9.25。

制备方法[1] 脱脂的刀豆糜，以5倍50%乙醇抽提，抽提液过滤后，真空浓缩至干。残渣溶于少量水，以稀硫酸酸化，加入黄安酸（2,4-二硝基-1-萘酚-7-磺酸）的水溶液，生成L-刀豆氨酸的黄安酸盐。滤出，在水中重结晶后，溶于氢氧化铵中，缓慢加入略为过量的氢氧化钡溶液。过滤，沉淀用水洗涤。合并滤液与水洗液，活性炭脱色，减压浓缩去氨。用硫酸沉淀钡离子后，加入几倍容积的乙醇，析出L-刀豆氨酸结晶。或者以盐酸调至pH6，再加乙醇，得L-刀豆氨酸的盐酸盐。

贮存 冷藏（0～5℃）。

参 考 文 献

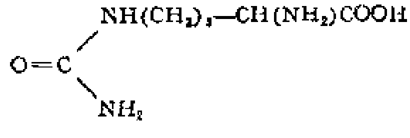
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc., 2622, 1961.

DL-瓜氨酸 Ⅱ-1(1)-0027

DL-Citrulline

别名 DL-*α*-Amino-*δ*-ureidovaleric acid; N-*δ*-Carbamyl-DL-ornithine; N[5]-Carbamyl-DL-ornithine; 5-Ureido-DL-norvaline

结构式

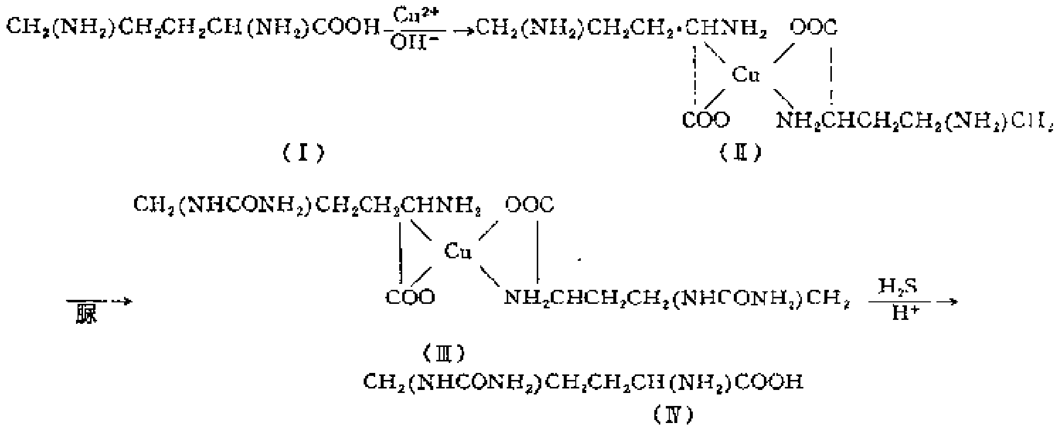


分子式 $C_6H_{13}N_3O_3$ **分子量** 175.19

理化性质 自水-乙醇中得白色针状结晶。溶于水；不溶于乙醇、甲醇和乙醚。在酸中稳定。

理化参数 熔点200～221℃(分解)。

制备方法[1]



10.0g DL-鸟氨酸盐酸盐（Ⅰ）溶于60mL水，加入14g碱式碳酸铜（$CuCO_3 \cdot Cu(OH)_2$），蒸汽浴上加热，搅拌20分钟。过滤，滤渣用水洗涤3次，每次10mL。滤液及洗涤液合并，加入18g脲，蒸汽浴上浓缩至约15mL，趁热转移到试管中。封闭试管，在沸水浴中煮3小时。4℃放置过夜。开启试管，瓜氨酸铜盐（Ⅲ）转入砂蕊漏斗，以冷蒸馏水洗涤3次，每次50mL。最后1次洗涤液应无色。10g（Ⅲ）悬浮于1L水，搅拌下通硫化氢气体6小时。过量的硫化氢通入空气排除之。过滤，沉淀以水洗2次，每次100mL。滤液与洗涤液合并，加入5g活性炭，真空浓缩至约300mL（浴温<50℃）。过滤，滤液加入1.5L无水乙醇（乙醇浓度约83%）。4℃放置过夜，滤出白色针状DL-瓜氨酸结晶，以50mL85%乙醇洗1次，50mL无水乙醇洗2次，乙醚洗2次，氯化钙真空干燥器内干燥。

贮存 室温。

参考文献

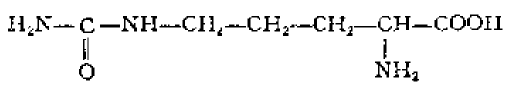
〔1〕 Hamilton, P. B and Anderson, R. A.: *Biochem. Preparations*, 3, 100(1953).

L-瓜氨酸　　　　Ⅲ-1(1)-0028

L-Citrulline

别名 L-α-Amino-δ-ureidovaleric acid; *N*-δ-Carbamyl-L-ornithine; N^5-Carbamyl-L-ornithine; 5-ureido-L-norvaline

结构式



分子式 $C_6H_{13}N_3O_3$　　　　**分子量** 175.19

理化性质 自水-乙醇中得白色片状结晶。酸中稳定。

理化参数 熔点220℃(分解)。$[\alpha]_D^{25}$ +4°（*C*=2，水），+24.2（*C*=2，1mol/L盐酸），+10.8°(*C*=1.1，0.1mol/L氢氧化钠)；25℃，*I*=0.1，p$K_1$2.43，p$K_2$9.41。

制备方法[1] 与DL-瓜氨酸（Ⅲ-1(1)-0027）制备方法相同，只是从L-鸟氨酸盐酸盐开始制取。

贮存 室温。

参 考 文 献

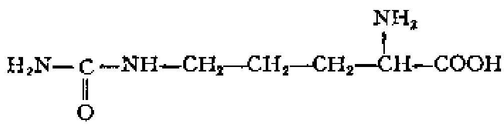
〔1〕 Hamiton, P. B. and Anderson, R. A.: *Biochemical Preparations*, 3, 100(1953).

D-瓜氨酸　　Ⅱ-1(1)-0029

D-Citrulline

别名　D-α-Amino-δ-ureidovaleric acid; *N*-δ-Carbamyl-D-ornithine; N^5-Carbamyl-D-ornithine; 5-ureido-D-norvaline。

结构式



分子式　$C_6H_{13}N_3O_3$　　**分子量**　175.19

理化性质　结晶固体。溶于水；不溶于乙醇、甲醇和乙醚。

理化参数　$[\alpha]_D^{25}$ −24.2°(*C*=2，1mol/L盐酸)。

制备方法[1]　与DL-瓜氨酸（Ⅳ-1(1)-0027）制备方法相同，只是从D-鸟氨酸盐酸盐开始制取。

贮存　室温。

参 考 文 献

〔1〕 Levintow, L. and Greenstein, J. P.: *J. Biol. Chem.*, 188, 643(1951).

DL-半胱氨酸　　Ⅱ-1(1)-0030

DL-Cysteine

别名　DL-脬氨基酸；DL-β-Mercapto-alanine

结构式　HS-CH_2-CH(NH_2)COOH

分子式　$C_3H_7NO_2S$　　**分子量**　121.16

理化性质　在中性或碱性水溶液中接触空气氧化成胱氨酸，在酸性时相对稳定，应以盐酸盐方式保存。溶于水、冰乙酸、氢氧化铵。

制备方法[1]　50g DL-胱氨酸溶于1L 3mol/L盐酸中，加入35g锡，温和回流2小时。冷却，滤去不溶的金属，加2倍体积水稀释，通硫化氢气体至饱和。加入活性炭，过滤，滤液减压蒸发至干。生成的单水DL-半胱氨酸盐酸盐在5mol/L盐酸中重结晶，用冷5mol/L盐酸洗涤后，20℃在五氧化二磷和氢氧化钠真空干燥器内干燥，得无水半胱氨酸盐酸盐。半胱氨酸自由酸从半胱氨酸盐酸盐制取。将DL-半胱氨酸盐酸盐室温下溶于尽量少的乙醇中，仔细滴加25%氢氧化铵溶液或2mol/L氢氧化锂溶液至中性。半胱氨酸迅即沉出。快速过滤，溶于事先煮沸去除氧气的少量水中。再结晶的半胱氨酸需快速滤出，转入事先充满氮气的干燥器内贮存。

贮存　室温。

参 考 文 献

〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons,

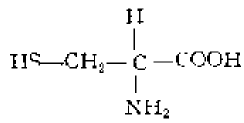
Inc. 1901, 1961.

L-半胱氨酸　　Ⅱ-1(1)-0031

L-Cysteine

别名　L-胼氨基酸；L-β-Mercapto-alanine

结构式



分子式　$C_3H_7NO_2S$　　**分子量**　121.16

理化性质　结晶在中性或碱性水溶液中接触空气氧化成胱氨酸，在酸性时，相对稳定。极易溶于水、乙醇；溶于冰乙酸、氨水。

理化参数　熔点 240℃（分解）。$[\alpha]^{25}_{D}$ +6.5°(C=2,5mol/L 盐酸)，−16.2°(C=2，水)；25℃，I=0.1p$K_1$1.92，p$K_2$8.35，p$K_3$10.46。

制备方法　以L-胱氨酸为材料，经还原成L-半胱氨酸，操作步骤和从DL-胱氨酸制取DL-半胱氨酸完全相同〔参阅DL-半胱氨酸（Ⅱ-1(1)-0030制备方法〕。

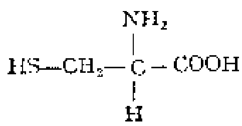
贮存　室温。

D-半胱氨酸　　Ⅱ-1(1)-0032

D-Cysteine

别名　D-胼氨基酸；D-β-Mercapto-alanine

结构式



分子式　$C_3H_7NO_2S$　　**分子量**　121.16

理化性质　在中性或碱性水溶液中接触空气氧化成胱氨酸，在酸性时，相对稳定。极易溶于水、乙醇；溶于冰乙酸，氢氧化铵溶液。

理化参数　$[\alpha]^{25}_{D}$ −6.5°(C=2,5mol/L盐酸)，+16.25°(C=2，水)。

制备方法　以D-胱氨酸为材料，还原生成D-半胱氨酸。操作步骤和从DL-胱氨酸制取DL-半胱氨酸完全相同（参阅DL-半胱氨酸（Ⅱ-1(1)-0030）制备方法）。

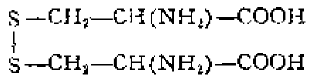
贮存　室温。

DL-胱氨酸　　Ⅱ-1(1)-0033

DL-Cystine

别名　DL-膀胱氨基酸；DL-重胼氨基酸 DL-Dicysteine；DL-3,3′-Dithio-bis-(2-aminopropionic acid)

结构式



分子式 $C_6H_{12}N_2O_4S_2$ **分子量** 240.29

理化性质 针状结晶。微溶于水。

理化参数 熔点260℃。35℃，$I=0.1$ $pK_1<1$，$pK_2$2.1，$pK_3$8.02，$pK_4$8.71。

制备方法[1] 100g L-胱氨酸在1L 6mol/L盐酸中回流5天。以活性炭脱色，减压浓缩至出现固体物质。溶于1L水，加浓氢氧化铵溶液中和至刚果红试纸变色。过滤，沉淀溶于最少量的3mol/L盐酸，以水稀释至700mL，再一次用活性炭脱色。以氨水中和后，4℃放置24小时，沉淀为无光学活性的胱氨酸（Ⅰ）。60g（Ⅰ）溶于200mL6mol/L盐酸，在40～50℃减压浓缩至刚出现结晶。冷至室温，约1小时后，过滤。结晶以每100mL含有5mL浓盐酸的乙醇：乙醚（1:1）混合液洗涤，产量30g。母液与洗涤液合并同法减压浓缩，得第二批结晶10g。第一批结晶按下法重结晶2次，第二批结晶再重结晶3～4次可得DL-胱氨酸纯品。

提纯方法 结晶溶于6倍体积的水，内含足以使结晶溶解的盐酸。然后每二份上述溶液加入一份浓盐酸。DL-胱氨酸盐酸盐产量15～25g。DL-胱氨酸从DL-胱氨酸盐酸盐制取。将上述DL-胱氨酸盐酸盐溶于2500mL水，室温放置24小时，DL-胱氨酸析出，产率87%。

贮存 室温。

参 考 文 献

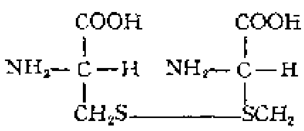
〔1〕 Loring, H. S. and du Vigneaud, V.: *J. Biol. Chem.*, 102, 287(1933).

L-胱氨酸 Ⅱ-1(1)-0034

L-Cystine

别名 L-膀胱氨基酸；L-重肼氨基酸 L-Dicysteine；L-3,3′-Dithio-bis-(2-aminopropionic acid)

结构式



分子式 $C_6H_{12}N_2O_4S_2$ **分子量** 240.29

理化性质 自稀盐酸中得六角形片状或六角棱柱形结晶。微溶于水；溶于无机酸和碱、氨水；不溶于苯、乙醚和三氯甲烷。

理化参数 熔点258～261℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}$ $-232°$（$C=1$，5mol/L盐酸）。

制备方法[1] 主要从毛发等蛋白质中提取。下列方法制备L-胱氨酸可以确保无消旋胱氨酸夹杂其间。100g蛋白质加300mL50%硫酸回流2～3小时，直至不显双缩脲反应为止。冷却后以水稀释至5倍体积，4mol/L氢氧化钠加至刚果红试纸刚呈碱性。加入固体硫酸钠至饱和，几小时后滤出析出的腐黑物，用饱和硫酸钠溶液洗涤。合并滤液及洗涤液，搅拌下加入硫酸铜（每100mL水解液约耗22g$CuSO_4·5H_2O$）。以4mol/L氢氧化钠调至中性，滤出生

成的胱氨酸铜盐，用冷水洗涤、干燥之。胱氨酸铜盐溶于浓盐酸（约8ml/g铜盐），溶液通入氯化氢至饱和，20℃放置数天。纯L-胱氨酸盐结晶析出，在玻璃砂芯漏斗中过滤，以盐酸的乙醇溶液和乙醚洗涤。L-胱氨酸也可以从L-胱氨酸盐酸盐制取。将L-胱氨酸盐酸盐溶于水中，不断稀释直至L-胱氨酸结晶析出。

贮存 室温。

参考文献

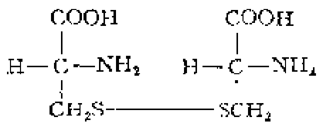
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol 3, J. Wiley and Sons, Inc., 1886, 1961.

D-胱氨酸 Ⅱ-1(1)-0035

D-Cystine

别名 D-膀胱氨基酸；D-重脟氨基酸 D-Dicysteine; DL-3,3′-Dithio-bis-(2-amino-propionic acid)

结构式



分子式 $C_6H_{12}N_2O_4S_2$ **分子量** 240.29

理化性质 白色六角形片状结晶。微溶于水，溶于矿物酸和碱；不溶于乙醇。

理化参数 熔点 247～249℃。$[\alpha]_D^{25}$ +232°(C=1, 2.5mol/L盐酸)。

制备方法[1] 24gL-胱氨酸溶于100mL 2mol/L氢氧化钠溶液，冷至0℃。剧烈搅拌下交替加入500mL冷的2mol/L氢氧化钠溶液及50mL乙酸酐，维持溶液pH9。加毕后2小时，加入6mol/L盐酸至刚果红呈蓝色。以乙酸乙酯萃取溶液几次，合并萃取液，以无水硫酸钠干燥。过滤，滤液以干空气吹干。油状残渣溶于热的丙酮，以过量石油醚处理。生成的白色沉淀滤出后溶于热的丙酮。过滤除去少量不溶物，滤液5℃放置几小时。离心、沉淀迅速转移入五氧化二磷真空干燥器内，80℃真空干燥12小时。产物为双-乙酰-L-胱氨酸(Ⅰ)。32.4g(Ⅰ)溶于250mL冰乙酸中，室温搅拌下加入50mL乙酸酐，加塞放置。不时吸取少量溶液检测旋光，约16小时后，旋光由开始时约-55°变为0°。此时过滤，滤液由干空气流吹干。粘性残渣经乙醚摩擦，逐渐结晶。5℃放置几天后，残渣全部结晶。离心，结晶迅即转入五氧化二磷与氢氧化钾干燥器内真空干燥几小时。产物为双乙酰-DL-胱氨酸和双乙酰-内消旋胱氨酸混合物(Ⅱ)。9.72g(Ⅱ)溶于150mL水，加2mol/L氢氧化钠调至pH7.5，加水稀释至333mL，再调整至pH7.5。1g酰化酶Ⅰ粉加于溶液中，38℃保温。6～7小时后，溶液pH降至6.8，再调至7.5。加入750mg酰化酶Ⅰ，继续保温9小时。溶液pH又一次调至7.5，加入粗酰化酶Ⅰ8g。保温24小时后，加入乙酸将pH降至5.5，减压浓缩(35～40℃)至约100mL。加入活性炭，蒸汽浴上加热10分钟后，5℃放置18小时。过滤，以100mL水洗滤渣。合并滤液与洗涤液，40℃真空浓缩至约50mL，倒入Dowex50×4(H^+)阳离子交换树脂柱(2.5×30cm)。以水洗柱，收集流出液，直至刚果红试纸呈碱性。减压浓缩收集液至干。油状残渣溶于100mL2mol/L盐酸，回流2小时。冷却溶液，加活性炭处理。过滤后，滤液调至pH5.5

(用氨水)，冰冷后过滤。沉淀是D-胱氨酸，以水洗涤后，用2mol/L盐酸在70℃萃取2次。以稀氢氧化铵溶液调至pH5后冰冷之，得纯品D-胱氨酸。

贮存 室温。

参 考 文 献

〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons Inc., 1917, 1961.

DL-2,4-二氨基丁酸　Ⅱ-1(1)-0036

DL-2,4-Diaminobutyric acid

别名 DL-γ-氨基丁氨酸 DL-γ-Aminobutyrine; DL-α,γ-Diaminobutyric acid; DL-2,4-Diaminobutanoic acid

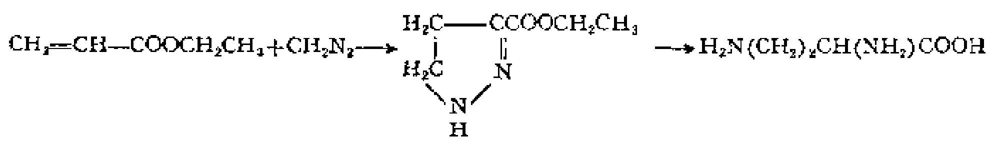
结构式 $H_2N-CH_2-CH_2-CH(NH_2)-COOH$

分子式 $C_4H_{10}N_2O_2$　**分子量** 118.14

理化性质 自乙醇-水中得棱柱形单盐酸盐结晶。自浓盐酸-冰乙酸中得六角棱柱形双盐酸盐结晶。溶于水和无机酸。

理化参数 熔点228～230℃(分解)(单盐酸盐)，202～206℃(分解)(双盐酸盐)。pK_1 1.85，pK_2 8.28，pK_3 10.50。

制备方法[1]



(Ⅰ)　(Ⅱ)　(Ⅲ)　(Ⅳ)

10g丙烯酸乙酯(Ⅰ)溶于100mL冷的无水乙醚中。7.6g重氮甲烷(Ⅱ)溶于300mL无水乙醚中。二溶液混合，振荡，5℃放置2小时。过量的重氮甲烷在40℃下赶去，无色的溶液减压蒸发至干。残渣(Ⅲ)立即溶于乙醇中，在兰尼(Raney)镍催化下，65℃，2433 MPa压力下通入氢气约3小时。滤去催化剂后，滤液减压浓缩成浆。浆状物溶于200mL20%盐酸，回流2小时。溶液用活性炭脱色，减压浓缩至干。残渣溶于少量水，加入乙醇，含1.5分子水的DL-2,4-二氨基丁酸沉淀。上述沉淀溶于浓盐酸，加入过量的冰乙酸，得DL-2,4-二氨基丁酸双盐酸盐结晶。

贮存 低温(<0℃)。

参 考 文 献

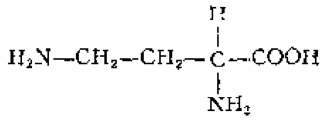
〔1〕 Carter, H. E., Van Abeele, F. R. and Rothroek, J. W.: *J. Biol. Chem.*, 178, 325(1949).

L-2,4-二氨基丁酸　Ⅱ-1(1)-0037

L-2,4-Diaminobutyric acid

别名 L-γ-氨基丁氨酸 DL-γ-Aminobutyrine; DL-α, γ-Diaminobutyric acid; DL-2,4-Diaminobutanoic acid

结构式



分子式　$C_4H_{10}N_2O_2$　　　　**分子量**　118.1!

理化性质　自乙醇-水中得片状单盐酸盐结晶，浓盐酸-冰乙酸中得棱柱形双盐酸盐结晶。溶于水及无机酸。

理化参数　熔点 228～230℃（分解）（单盐酸盐），197～198℃（双盐酸盐）。$[\alpha]_D^{25}$ +7.2°（C=2，水），+24.2°(单盐酸盐，C=2，5mol/L盐酸)，$[\alpha]_D^{18}$ +14.6°(双盐酸盐，C=3.67，水)。

制备方法[1]　172g DL-2,4-二氨基丁酸溶于500mL冷的5mol/L氢氧化钠，在0℃搅拌下交替加入氯乙酰氯（总共250g）和5mol/L冷的氢氧化钠溶液（总共500mL）。反应溶液保持碱性。加完后反应混合物用冷的浓盐酸酸化至刚果红变蓝，以乙酸乙酯抽提5次。合并抽提液，活性炭脱色，无水硫酸钠干燥，减压浓缩成厚浆。加入少量乙酸乙酯，用过量石油醚沉淀。-15℃放置数天后，析出DL-α,γ-二氯乙酰二氨基丁酸结晶。27.1gDL-α,γ-二氯乙酰二氨基丁酸溶于1L水，调至pH7.5。加入酰化酶Ⅰ5g。用2mol/L氢氧化锂不时调节，保持溶液在38℃保温过程中pH在7.5。反应约24小时完毕，加入乙酸降低pH至5。减压浓缩，加入过量的乙醇，沉淀的γ-氯乙酰氨基-L-丁氨酸在水-乙醇中重结晶。γ-氯乙酰氨基-L-丁氨酸在2.5mol/L盐酸中回流2小时，减压浓缩至干。残渣溶于水中，以吡啶调至pH3.0，加乙醇析出L-2,4-二氨基丁酸粗品，在水-乙醇中重结晶。

贮存　低温（<0℃）。

参 考 文 献

〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc., 2475, 1961.

DL-乙硫氨酸　　Ⅱ-1(1)-0038

DL-Ethionine

别名　DL-S-乙基高半胱氨酸 DL-S-Ethylhomocysteine; DL-α-Amino-4-(ethylthio)-butyric acid.

结构式　$CH_3CH_2 \cdot S \cdot (CH_2)_2CH(NH_2)COOH$

分子式　$C_6H_{13}NO_2S$　　　　**分子量**　163.24

理化性质　无色片状结晶。溶于水。可能是致癌物质。

理化参数　熔点257～260℃(分解)。

制备方法[1]

$$\underset{(\mathrm{I})}{C_6H_5CH_2SCH_2CH_2CH(NH_2)COOH} \xrightarrow{\text{液氨, Na, }C_2H_5Br} \underset{(\mathrm{II})}{C_2H_5SCH_2CH_2CH(NH_2)COOH}$$

18g S-苄基高半胱氨酸（Ⅰ）溶于200mL液氨中，搅拌下加入小片状金属钠直至出现的蓝色能维持一段时间。继续在搅拌下加入10mL乙溴，同时任氨溶液自然挥发。残渣溶于

50mL水，过滤，滤液以50%碘化氢溶液处理至石蕊试纸刚呈酸性。冰冷，生成的DL-乙硫氨酸（Ⅱ）在水中重结晶。

贮存 室温。

参 考 文 献

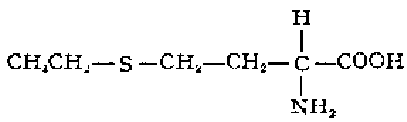
〔1〕 Dyer, H. M.: *J. Biol. Chem.*, 124, 519(1938).

L-乙硫氨酸 Ⅱ-1(1)-0039

L-Ethionine

别名 L-S-乙基高半胱氨酸 L-S-Ethylhomocysteine; L-α-Amino-4-(ethylthio)-butyric acid

结构式



分子式 $C_6H_{13}NO_2S$ **分子量** 163.24

理化性质 无色结晶。溶于水。可能是致癌物质。

理化参数 熔点 272—274℃(分解)。$[\alpha]_D^{24}$ +25.1°，$[\alpha]_D^{23}$ +20(1mol/L盐酸)，$[\alpha]_D^{22}$ +21.7°（C=1，1mol/L盐酸）。

制备方法[1] L-乙硫氨酸系从DL-乙硫氨酸乙酰化，以猪肾酰化酶Ⅰ拆分而得。具体操作步骤完全同L-丙氨酸（Ⅱ-1(1)-0002）的制备方法。163.2 gDL-乙硫氨酸溶于1500mL冰乙酸。150mL乙酸酐得乙酰-DL-乙硫氨酸〔参阅L-丙氨酸（Ⅱ-1(1)-0002）制备方法〕。0.1mol乙酰-DL-乙硫氨酸溶于1L水，氢氧化铵溶液调至pH7.0～7.2，加入3mg酰化酶Ⅰ。以下操作步骤完全同DL-丙氨酸拆分（参阅“L-丙氨酸”制备方法）。得纯的L-乙硫氨酸。

贮存 室温。

参 考 文 献

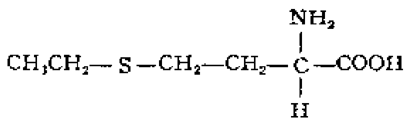
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2658, 1961.

D-乙硫氨酸 Ⅱ-1(1)-0040

D-Ethionine

别名 D-S-乙基高半胱氨酸 D-S-Ethylhomocysteine; D-α-Amino-4-(ethylthio)-butyric acid

结构式



分子式 $C_6H_{13}NO_2S$ **分子量** 163.24

理化性质 无色结晶。溶于水，可能是致癌物质。

理化参数 熔点278℃(分解)。$[\alpha]_D^{22}$ －21°(C＝1，1mol/L盐酸)。

制备方法 自制取L－乙硫氨酸的结晶母液．按照D－丙氨酸制备方法制备D－乙硫氨酸〔参阅L－乙硫氨酸（Ⅱ－1(1)－0039）制备方法，D－丙氨酸（Ⅱ－1(1)－0003）制备方法〕。

贮存 室温。

DL－谷氨酸 Ⅱ－1(1)－0041

DL－Glutamic acid

别名 DL－α－氨基戊二酸 DL－α－Aminoglutaric acid

结构式 $HOOC\cdot(CH_2)_2CH(NH_2)COOH$

分子式 $C_5H_9NO_4$ **分子量** 147.13

理化性质 四边形结晶。溶于水（25℃ 2.054g/100mL水，75℃，11.86g/100mL水）；微溶于乙醇及乙醚。在中性水溶液中，100℃形成吡咯酮羧酸。

理化参数 熔点225～227℃(分解)。25℃，p$K_1$2.10，p$K_2$4.07，p$K_3$4.47。

制备方法[1] 15gL－谷氨酸悬浮于25mL矿物油，迅速加热至200℃并且维持在这个温度。约3小时左右，L－谷氨酸转化成为DL－吡咯酮羧酸。冷却，倾倒出矿物油，残渣溶于100mL温热的6mol/L盐酸。过滤，滤液回流5小时。冷至80℃，加2g活性炭，再煮沸5分钟。减压浓缩成浆，浆状残渣溶于25mL50℃水，加2mol/L氢氧化锂至pH3。5℃放置数小时后，过滤，DL－谷氨酸（含一分子水）以冰水洗尽氯离子。

提纯方法 在水中重结晶。每克粗品DL－谷氨酸（一水化物）溶于2.5～3.0mL沸水，趁热过滤，滤液在5℃放置数小时。得DL－谷氨酸（一水化物）纯品。

贮存 室温。

参 考 文 献

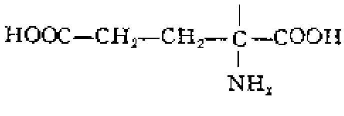
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 1951, 1961.

L－谷氨酸 Ⅱ－1(1)－0042

L－Glutamic acid

别名 L－麸氨酸；L－α－氨基戊二酸 L－α－Aminoglutaric acid

结构式



分子式 $C_5H_9NO_4$ **分子量** 147.13

理化性质 四边形结晶。溶于水（25℃，0.864g/100mL水）；微溶于75%乙醇、乙醇、甲醇；不溶于冰乙酸。在糖存在时，对热的无机酸稳定。它的单钠盐是鲜味剂。

理化参数 熔点 247～249℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}$＋31.8°(C＝2，5mol/L盐酸)，＋12.0°(C＝2，水)。

制备方法[1] L-谷氨酸可用市售 L-谷氨酸提纯。下面是从面筋水解液提取 L-谷氨酸的方法。300mL浓盐酸与100g面筋粉混和，回流 6 小时。冷却至80℃，加入20g活性炭，再度煮沸几分钟。冷却至室温，沙芯漏斗过滤。残渣用50mL 5mol/L 盐酸洗涤。滤液与洗涤液合并，减压浓缩至约 100mL。冷至 0℃，通入氯化氢气体至饱和。在 −5℃ 放置几小时，L-谷氨酸盐酸盐粗品析出。用沙芯漏斗滤出，母液进一步浓缩至一半体积，又得到一些结晶。合并二次粗品，溶于约50mL热水中，加入1g活性炭，沸腾几分钟。过滤，滤液冷至0℃，通入氯化氢气体至饱和。在 −5℃ 放置几小时后，结晶的纯 L-谷氨酸盐酸盐以 20mL 水冷的5mol/L盐酸洗涤，在五氧化二磷及氢氧化钠的真空干燥器内干燥之。L-谷氨酸也可从 L-谷氨酸盐酸盐制取。37.6g L-谷氨酸盐酸盐溶于200mL热水中，加入20g重蒸苯胺，迅速冷至室温。搅拌下加乙醇至80%浓度。5℃放置20小时，将L-谷氨酸结晶抽气过滤。以 95%乙醇洗至无氯离子，再用乙醚洗涤后干燥。产量约27g。

贮存 室温。

参 考 文 献

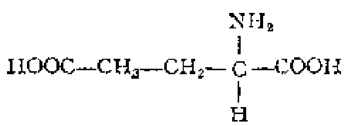
〔1〕 Greenstein, J, P. and Winitz, M. :"Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 1936, 1961.

D-谷氨酸　　氨-1(1)-0043

D-Glutamic acid

别名 D-α-氨基戊二酸 D-α-Aminoglutaric acid

结构式



分子式 $C_5H_9NO_4$　　**分子量** 147.13

理化性质 菱形结晶。溶于水（20℃，1.5g/100mL水）；微溶于乙醇（15℃，0.07g/100mL乙醇）；不溶于乙醚。

理化参数 熔点 247～249℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}$ −31.8°（C=2，5mol/L 盐酸），−12.0°（C=2，水）。

制备方法[1] 147.1g DL-谷氨酸溶于 1L 2mol/L 氢氧化钠溶液中，溶液冷至 5℃。在搅拌下交替 4 次加入600mL冷的4mol/L氢氧化钠和120mL乙酸酐。溶液保持在5℃及碱性。加毕，溶液继续维持在5℃搅拌30分钟。加入550mL 2mol/L硫酸，40℃减压浓缩至干。以沸腾乙醇萃取残渣4～5次，每次100mL。合并萃取液，过滤，减压浓缩至干。残渣在少量热水中，以活性炭处理后，过滤。滤液冷却，得乙酰-DL-谷氨酸纯品，以少量冰水洗涤之。18.9g乙酰-DL-谷氨酸溶于800ml水，以2mol/L氢氧化锂调至pH7.0～7.2，然后加水稀释至1L。在搅拌下，再加入肾酰化酶Ⅰ 20mg，38℃保温24小时，再加酰化酶Ⅰ 4mg，继续保温12小时。滴加5mol/L盐酸至pH3.0，加入1g活性炭，过滤。滤液在30℃减压浓缩至约 100mL，再用活性炭处理后，加无水乙醇至乙醇浓度为90%。生成的沉淀是L-谷氨酸粗品，抽气过滤，滤液以硫酸酸化至pH1.2，减压浓缩至干。残渣以丙酮多次萃取其中的乙酰-D-谷

氨酸。萃取液减压浓缩至干。残渣溶于2mol/L盐酸，回流2小时。减压浓缩除去过量的盐酸。残渣溶于少量水，加吡啶调至pH3.0，再加乙醇至乙醇浓度为90%。生成的D-谷氨酸在沸水中溶解，加入沸无水乙醇至刚出现混浊。放冷后，析出D-谷氨酸结晶，用乙醇、乙醚洗涤后干燥。得成品。

贮存 室温。

参 考 文 献

〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol, 3, J. Wiley and Sons, Inc. 1949, 1961.

DL-谷氨酰胺 Ⅱ-1(1)-0044

DL-Glutamine

别名 DL-α-Aminoglutamic acid

结构式 $H_2N—CO—(CH_2)_2CH(NH_2)COOH$

分子式 $C_5H_{10}N_2O_3$ **分子量** 146.15

理化性质 白色针状结晶。溶于水。

理化参数 25℃，$pK_1$2.17，$pK_2$9.13。

制备方法[1] 将1kg DL-谷氨酸溶于10℃的10L甲醇与500mL硫酸的溶液中，20℃放置4小时。冷却至0℃，通入氨气中和。加入500mL二硫化碳，继续通氨至饱和，20℃放置3～5天。过滤，滤液减压浓缩（<35℃）除氨，加入4L 4mol/L乙酸，60℃保温30分钟后，减压浓缩蒸出所含的硫化合物。浓缩液加甲醇至甲醇溶液浓度为70%，－5℃放置2小时，过滤，得DL-谷氨酰胺粗品。将粗品溶于3.5L沸水中，加入7L甲醇，－5℃放置。滤出DL-谷氨酰胺，产量约650g。

贮存 室温。

参 考 文 献

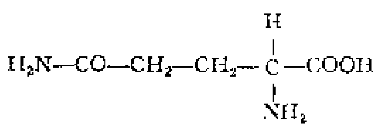
〔1〕 D. P., 708113 (1960).

L-谷氨酰胺 Ⅱ-1(1)-0045

L-Glutamine

别名 L-α-Aminoglutamic acid

结构式



分子式 $C_5H_{10}N_2O_3$ **分子量** 146.15

理化性质 白色针状结晶。溶于水；微溶于乙醇、甲醇；不溶于乙醚、三氯甲烷、乙酸乙酯，丙酮、冰乙酸。在中性或弱酸性沸腾溶液中，迅即转化为吡咯酮羧酸的铵盐。

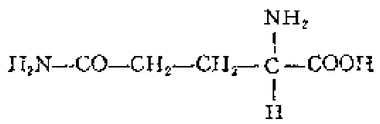
理化参数 熔点 184～185℃。$[\alpha]_D^{25}$ +31.8°（C=2，1mol/L盐酸），+6.3°（C=2，水）。

制备方法 同DL-谷氨酰胺（Ⅱ-1(1)-0044)的制备方法，以L-谷氨酸为起始材料。
贮存 室温。

D-谷氨酰胺 Ⅱ-1(1)-0046

D-Glutamine

别名 D-α-Aminoglutamic acid
结构式



分子式 $C_5H_{10}N_2O_3$ **分子量** 146.15
理化性质 白色结晶。溶于水。
制备方法 同DL-谷氨酰胺（Ⅱ-1(1)-0044)的制备方法，以D-谷氨酸为起始材料。
贮存 室温。

甘 氨 酸 Ⅱ-1(1)-0047

Glycine

别名 氨基乙酸 Aminoacetic acid; Aminoethanoic acid; Glycocoll
结构式 $H_2N—CH_2—COOH$
分子式 $C_2H_5NO_2$ **分子量** 75.07
理化性质 白色单斜晶体。味甜。溶于水、乙醇、吡啶；微溶于乙醚。
理化参数 熔点232～233℃（变黑），292℃(分解)。25℃，$pK_1$2.35，$pK_2$9.78。
制备方法[1]

$$ClCH_2COOH + 2NH_3 \longrightarrow NH_2CH_2COOH + NH_4Cl$$

2.2kg碳酸铵加500mL水，加热至40～50℃使溶。冷却至室温，再加1L浓氨水。将一氯乙酸（95%）溶液（500g/400mL水）分批慢慢加入，温度控制<60℃，10分钟加毕。50～60℃保温4小时后升温至80℃，去除氨和二氧化碳。最后升温至112℃，加入10g活性炭，煮沸几分钟，趁热过滤。滤液约1L，冷至70℃，加入甲醇3.5L，放置。滤出甘氨酸粗品，悬浮于1500mL 90%甲醇溶液中，搅拌2小时。过滤后，再重复上述步骤一次。沉淀溶于500mL水，加热至沸，加入10g活性炭，趁热过滤。滤液加入1.2L甲醇沉淀甘氨酸，4小时后，抽气过滤。以甲醇洗甘氨酸沉淀3次，每次100mL。产量220～230g。
贮存 室温。

参 考 文 献

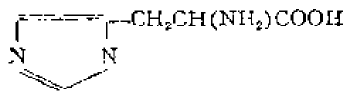
〔1〕 Cheronis, N. D. and Spitzmueller, K. H.: *J. Org. Chem.*, 6, 349 (1941).

DL-组氨酸 Ⅱ-1(1)-0048

DL-Histidine

别名 DL-2-Amino-4(5)-imidazole-propionic acid; DL-Glyoxaline-5-alanine

结构式



分子式 $C_6H_9N_3O_2$ **分子量** 155.16

理化性质 四面体棱柱形结晶。溶于水，不溶于乙醇、乙醚、丙酮、三氯甲烷。

理化参数 熔点285～286℃（分解）。25℃p$K_1$1.80，p$K_2$6.04，p$K_3$9.33。

制备方法[1] 25g L-组氨酸盐酸盐（含1分子水）溶于75mL 4mol/L氢氧化钠和50mL水。冷却下，分批搅拌加入250mL乙酸酐。55℃保温16小时以75mL 2mol/L硫酸处理。减压浓缩至干。残渣以热乙醇萃取数次。合并萃取液，减压浓缩至干。残渣溶于少量水，加入过量丙酮沉淀乙酰-DL-组氨酸。将乙酰-DL-组氨酸与2mol/L盐酸回流2小时，减压浓缩至干。残渣溶于水，以过量乙醇沉淀DL-组氨酸。得到的DL-组氨酸盐酸盐溶于200mL温水中，加入100mL 1.0mol/L氢氧化锂溶液，再加乙醇至乙醇溶液浓度为80%。DL-组氨酸抽气过滤后，用少量冰水洗涤，然后，在最低量的沸水中重结晶。

贮存 室温。

参 考 文 献

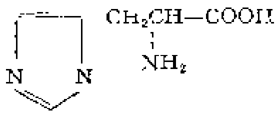
〔1〕 du Vigneaud, V., and Hunt, M.: *J. Biol. Chem.*, 115, 93 (1936).

L-组氨酸 Ⅱ-1(1)-0049

L-Histidine

别名 L-α-Amino-4(5)-imidazole-propionic acid; L-Glyoxaline-5-alanine

结构式



分子式 $C_6H_9N_3O_2$ **分子量** 155.16

理化性质 自水中得小叶片状结晶。溶于水；微溶于乙醇；不溶于乙醚。

理化参数 熔点277℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}$+11.8°(C=2，5mol/L盐酸)，−38.5°(C=2，水)。

制备方法[1] 700g干血粉与4L 6mol/L盐酸在蒸汽浴上回流24小时，水解液反复加水，真空浓缩成浆。每次浓缩后加水1L稀释后再浓缩，除去过量的盐酸。最后加水稀释残渣至4L，以50%氢氧化钠调至pH 4.5。在5℃冷却20小时，混合物过滤，滤液与50g活性炭在蒸汽浴上共沸。再过滤，得到的黄色滤液加水至10L，加入氯化高汞的醇溶液（300g氯化高汞溶于1L温热乙醇）。搅拌下缓缓加入碳酸钠的浓溶液至pH 7.0～7.5。放置数小时后，沉淀用倾泌法洗涤3～4次。抽气过滤，滤渣在润湿状态下悬于3L水中，通入硫化氢气至饱和。过滤，滤液减压浓缩至约1L，与1g活性炭共热。滤去活性炭，滤液进一步浓缩至约100mL，加入4容积乙醇，得L-组氨酸单盐酸盐粗品约40g，同法重结晶2次得纯品。L-组氨酸可将上述L-组氨酸单盐酸盐以氢氧化锂处理后用乙醇沉淀（参阅DL-组氨酸（Ⅱ-1(1)-0048）制备方法）。

贮存 室温。

参 考 文 献

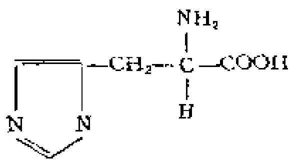
〔1〕 Foster, G. L. and Shemin, D.:"Org. Syntheses", Coll. Ⅱ, 330, 1943.

D-组氨酸 Ⅱ-1(1)-0050

D-Histidine

别名 D-α-Amino-4(5)-imidazole-propionic acid; D-Glyoxaline-5-alanine

结构式



分子式 $C_6H_9N_3O_2$ **分子量** 155.16

理化性质 长片状结晶。不溶于乙醇、三氯甲烷、乙醚、丙酮。

理化参数 熔点287～288℃；$[\alpha]_D^{25}$ − 11.8°(C=2, 5mol/L盐酸)，+38.5°(C=2,水)。

制备方法[1] 3.5g DL-组氨酸溶于100mL 水，加入3.4g d-酒石酸。减压浓缩至出现结晶(约15mL)。室温放置 20 小时。滤出结晶并干燥之。产物为 D-组氨酸-d-酒石酸盐在少量水中重结晶。8.3g D-组氨酸-d-酒石酸盐溶于200mL水，以氯化高汞的乙醇溶液（25g氯化高汞溶于350mL乙醇）处理，以浓碳酸钠溶液调至pH7.2。以水倾泌法洗涤生成的D-组氨酸汞盐。过滤后，以50%乙醇洗之。悬浮于水中，用硫化氢除去汞，滤液及洗涤液减压浓缩，加入乙醇至乙醇溶液浓度为80%，得约5g D-组氨酸，(参阅L-组氨酸(Ⅱ-1(1)-0049) 制备方法)。

贮存 室温。

参 考 文 献

〔1〕 Pyman, F. L.: *J. Chem. Soc*, 99, 1386 (1911).

DL-高半胱氨酸 Ⅱ-1(1)-0051

DL-Homocysteine

别名 DL-2-Amino-4-mercaptobutyric acid

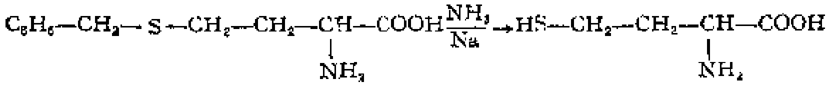
结构式 HS—CH_2—CH_2—CH(NH_2)—COOH

分子式 $C_4H_9NO_2S$ **分子量** 135.18

理化性质 自水-乙醇中得片状小结晶。溶于水；微溶于乙醇；不溶于乙醚。易氧化为高胱氨酸，仅在无氧时得到纯品。在热的20%盐酸中几分钟内形成硫内酯盐酸盐。

理化参数 熔点 263～265℃（分解)。25℃, $pK_1$2.22, $pK_2$8.87, $pK_3$10.86。

制备方法[1]



在一带汞封闭搅拌器，碱石灰干燥管及一通氨气管的500mL三颈瓶中，加入25g S-苄基高半胱氨酸，参阅L-高半胱氨酸（Ⅱ-1(1)-0052)制备方法；置于二氧化碳-三氯乙烯下，通入在钠上蒸出的氨气约400mL。加入少量金属钠直至出现持续5～10分钟的蓝色。加入足量的碘化铵去除蓝色，然后仔细地在避氧状态下蒸去氨。烧瓶用纯氮冲洗几次，加入50mL的沸腾蒸馏水，在冰浴中冷却。加入45%氢碘酸直至石蕊试纸刚呈酸性（约需70mL）。溶液呈棕红色，并有悬浮物。加入活性炭，过滤（注意：过滤时只能接触纯氮、不能遇氧）。滤液加入500mL无水乙醇，冰中放置过夜。在避氧状态下滤出结晶DL-高半胱氨酸，用无水乙醇及乙醚洗涤（醇、醚均需不含过氧化物，醛及空气），在充氮的五氧化二磷干燥器内干燥。得12g DL-高半胱氨酸。

提纯方法　3g上述DL-高半胱氨酸溶于刚沸腾的水中，冷却，置于氮气下，加入100mL无水乙醇，立即避氧过滤。滤液以无水乙醇加至500mL，冰浴中放置过夜，得DL-高半胱氨酸纯品。

贮存　低温（<0℃），避氧。

参 考 文 献

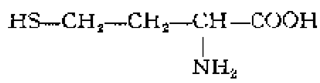
〔1〕 du Vigneaud, V., Dyer, H. M. and Harma, J.: *J. Biol. Chem.*, 101,719 (1933).

L-高半胱氨酸　　Ⅱ-1(1)-0052

L-Homocysteine

别名　L-2-Amino-4-mercaptobutyric acid

结构式



分子式　$C_4H_9NO_2S$　　**分子量**　135.18

理化性质　结晶。极易氧化。

制备方法[1]　26.8g DL-高胱氨酸与500mL液氨混合，加入一小片金属钠至搅拌后至少5分钟内蓝色不褪。加入氯化铵至刚好褪去蓝色。搅拌下加入19g溴化苄，加完后任溶剂挥发。残渣溶于水，以乙醚萃取。水层过滤后加入2g氰化钾，然后以冰乙酸调至pH5。S-苄基-DL-高半胱氨酸沉淀。溶于稀盐酸，以氢氧化铵调至pH5进行重结晶。重结晶的S-苄基-高半胱氨酸以水洗至无氯离子。22.4g S-苄基-高半胱氨酸溶于100mL冰冷的1mol/L氢氧化钠中，搅拌下交替加入总共110mL冰冷的1mol/L氢氧化钠及11g乙酸酐。室温放置30分钟后，加入5mol/L盐酸至刚果红酸性反应。生成的*N*-乙酰-*S*-苄基-D, L-高半胱氨酸滤出后以冷的1mol/L盐酸洗涤，最后以水洗净盐酸，在苯中重结晶。26.7g *N*-乙酰-*S*-苄基-D, L-高半胱氨酸悬浮于900mL水中，加入2mol/L氢氧化锂pH7.5。0.6g酰化酶Ⅰ溶于上述溶液，并加水稀释上述溶液至1L。在38℃，不断搅拌下保温24小时。再加0.3g酰化酶Ⅰ，继续搅拌保温20小时。以乙酸调至pH6，5℃放置18小时。过滤，滤渣以冰水洗涤，母液用于制备D-高半胱氨酸。滤渣与200mL 2mol/L盐酸在50℃搅拌15分钟，加入活性炭后过滤。以50 mL 2mol/L盐酸洗涤滤渣。滤渣以乙酸乙酯萃取2次，过滤，乙酸乙酯溶液留作制备D-高半胱氨酸。滤液（盐酸溶液）以浓氢氧化铵溶液调至pH5～6，溶液在冰中冷却几小时，抽

气过滤生成的S-苄基-L-高半胱氨酸，以冰水洗涤，在大量沸水中重结晶。S-苄基-L-高半胱氨酸经液氨处理得L-高半胱氨酸，具体步骤同DL-高半胱氨酸(Ⅱ-1(1)-0051)的制备方法。

贮存 低温（<0℃），避氧。

参考文献

〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M. :"Chemistry of the ...mino Acids",Vol. 3,J. Wiley and Sons, Inc. 2668,1961.

D-高半胱氨酸 Ⅱ-1(1)-0053

D-Homocysteine

别名 D-2-Amino-4-mercaptobutyric acid

结构式

$$SH—CH_2—CH_2—CH(NH_2)—COOH$$

分子式 $C_4H_9NO_2S$ **分子量** 135.18

理化性质 结晶。极易氧化。

制备方法[1] *S*-苄基-L-高半胱氨酸结晶后的母液，参阅L-高半胱氨酸（Ⅱ-1(1)-0052）制备方法。减压浓缩至约100mL。浓缩液以5mol/L盐酸调至刚果红试纸呈酸性。生成的*N*-乙酰-*S*-苄基-D-高半胱氨酸以乙酸乙酯萃取。萃取液以无水硫酸钠干燥。过滤，滤液蒸干。残渣以丙酮萃取。过滤，蒸去丙酮。残渣与200mL 2mol/L盐酸混合，回流2小时，活性炭处理，减压浓缩至干。残渣溶于少量水，滴加浓氨水至pH5。生成的*S*-苄基-D-高半胱氨酸以冷水洗涤，在大量沸水中重结晶。S-苄基-D-高半胱氨酸经液氨处理得D-高半胱氨酸，具体步骤同DL-高半胱氨酸(Ⅱ-1(1)-0051)的制备方法。

贮存 低温（<0℃），避氧。

参考文献

〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M. :"Chemistry of the Amino Acids",Vol, 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2669,1961.

DL-高胱氨酸 Ⅱ-1(1)-0054

DL-Homocystine

别名 DL-4,4'-Dithio-bis-(2-aminobutanoic acid)

结构式

$$\begin{array}{l} S—CH_2—CH_2—CH(NH_2)COOH \\ | \\ S—CH_2—CH_2—CH(NH_2)COOH \end{array}$$

分子式 $C_8H_{16}N_2O_4S_2$ **分子量** 268.36

理化性质 自水中得不规则的六角薄片。微溶于水；溶于无机酸或碱。

理化参数 熔点 260～265℃（分解）。25℃，$pK_1$1.59，$pK_2$2.54，$pK_3$8.52，$pK_4$9.44。

制备方法[1] 17g DL-甲硫氨酸溶于140mL 9mol/L硫酸，在油浴上125～135℃加热8小

时。冷却后，用水稀释，以氢氧化钡溶液去除硫酸根。过滤，滤液浓缩，DL-高胱氨酸结晶，在水中重结晶。

贮存 室温。

参 考 文 献

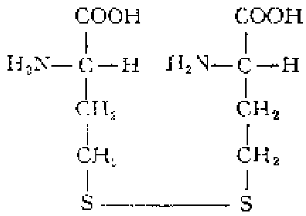
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2666, 1961.

L-高胱氨酸 Ⅱ-1(1)-0055

L-Homocystine

别名 L-4,4′-Dithio-bis-(2-aminobutanoic acid)

结构式



分子式 $C_8H_{16}N_2O_4S_2$ **分子量** 268.26

理化性质 结晶。溶于无机酸或碱；微溶于水。

理化参数 熔点 282～283℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}+78°$（$C=1\sim2$，5mol/L 盐酸），$[\alpha]_D^{21}-16°$（$C=0.06$，水）。

制备方法[1] L-高半胱氨酸溶于水，调至pH8～9。必要时通入空气直至硝普反应阴性。加乙酸调溶液至pH5，冰冷之，滤出生成的L-高胱氨酸在盐酸-氨水中重结晶。

贮存 室温。

参 考 文 献

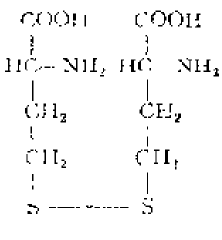
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2668, 1961.

D-高胱氨酸 Ⅱ-1(1)-0056

D-Homocystine

别名 D-4,4′-Dithio-bis-(2-aminobutanoic acid)

结构式



分子式 $C_8H_{16}N_2O_4S_2$ **分子量** 268.2

理化性质　结晶。溶于无机酸或碱；微溶于水。

理化参数　熔点　281～284（分解）。$[\alpha]_D^{25}-78°$（$C=1\sim2$，5mol/L盐酸），$[\alpha]_D^{21}+16°$（$C=0.06$，水）。

制备方法　同L-高胱氨酸（Ⅱ-1(1)-0055）的制备方法，以D-高半胱氨酸为起始材料。

贮存　室温。

DL-高丝氨酸　　Ⅱ-1(1)-0057

DL-Homoserine

别名　DL-2-Amino-4-hydroxy-*n*-butyric acid；DL-γ-Hydroxy-butyrine

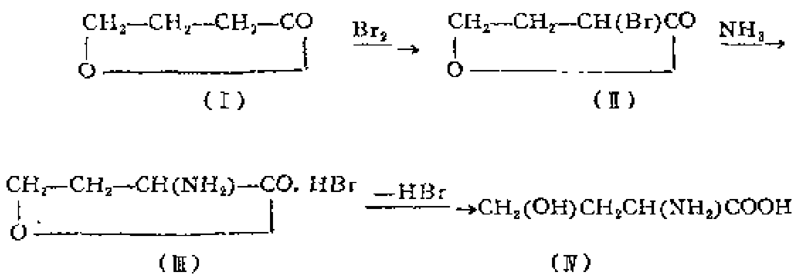
结构式　$CH_2(OH)-CH_2-CH(NH_2)COOH$

分子式　$C_4H_9NO_3$　　**分子量**　119.12

理化性质　结晶。溶于水（30℃，125g/100mL水）；微溶于乙醇、乙醚。在中性或碱性水溶液中稳定，在酸性溶液中转变为γ-丙酯或γ-丙酯和二酮对二氮己环。

理化参数　熔点　184～187℃（分解）；25℃ $pK_1$2.71，$pK_2$9.62。

制备方法[1]



1120g γ-丁醇酸内酯（Ⅰ）和25mL三溴化磷共热至100℃。分批加入溴，每批少量。维持温度在100～130℃，10小时内加溴总量为1975g。反应混合物继续在130℃加热4小时，真空蒸馏，收集120～140℃/0.9kPa馏分，得2100g α-溴丁酸内酯（Ⅱ）粗品。重蒸馏，收集130～131℃/1kPa馏分，得纯（Ⅱ）1675g。165g（Ⅱ）搅拌下加到990mL 28%氢氧化铵溶液中，室温下放置2天，减压浓缩至300mL。蒸汽浴上用氢氧化铅沉淀所含的溴离子。滤去沉淀，滤液通硫化氢气体。过滤，滤液减压浓缩至干。粘厚的残渣以300mL热甲醇搅拌，放冷，过滤。滤渣为DL-高丝氨酸（Ⅳ），以冷甲醇洗涤，在水-乙醇中重结晶。

贮存　室温。

参 考 文 献

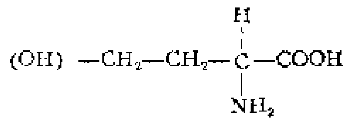
〔1〕 Livak, J. E., Britton, E. C., Vander Weele, J. C. and Murray, M. F.: *J. Am. Chem. Soc.*, 67, 2218 (1945).

L-高丝氨酸　　Ⅱ-1(1)-0058

L-Homoserine

别名　L-2-Amino-4-hydroxy-n-butyric acid；L-γ-Hydroxy-butyrine

结构式



分子式 $C_4H_9NO_3$ **分子量** 119.12

理化性质 自水-乙醇中得扁平菱形结晶。溶于水（30℃ 110g/100mL 水）；不溶于乙醇。

理化参数 熔点 203℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}+18.3°$（$C=2$，2mol/L盐酸），$[\alpha]_D^{25}-8.8°$（$C=1\sim2$，水）。

制备方法[1] 119g DL-高丝氨酸溶于250mL 冷的4mol/L 氢氧化钠中。交替加入氯乙酰氯和 4mol/L 氢氧化钠，总量分别为170g和 400mL。加毕，混合物用 10mol/L 盐酸调至 pH 1.7，用乙酸乙酯抽提几次。合并抽提液，以无水硫酸钠干燥后浓缩成厚浆。加入石油醚搅拌后倾去石油醚。反复几次后以500mL无水乙醚处理。冷至－20℃，摩擦瓶壁促使结晶。过滤，结晶以冷乙醚洗涤。在少量乙酸乙酯中加活性炭重结晶。结晶为氯乙酰-DL-高丝氨酸γ内酯(Ⅰ)。35.5g(Ⅰ)溶于1800mL水，加入几滴酚红，以 2mol/L 氢氧化锂溶液调至pH8，并保持此pH在 1 小时内不变。加60mg酰化酶Ⅰ粉末于此溶液中，以水稀释至 2L。38℃保温 6 小时。以乙酸调至pH5，加活性炭后过滤。滤液减压浓缩至约 100mL，加入乙醇至乙醇浓度为90%。析出结晶 L-高丝氨酸，同法进行重结晶。母液含有氯乙酰-D-高丝氨酸，可用于制备D-高丝氨酸。

贮存 室温。

参 考 文 献

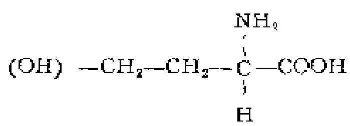
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2615, 1961.

D-高丝氨酸 Ⅱ-1(1)-0059

D-Homoserine

别名 D-2-Amino-4-hydroxy-*n*-butyric acid; D-γ-Hydroxy-butyrine

结构式



分子式 $C_4H_9NO_3$ **分子量** 119.12

理化性质 结晶。易溶于水；不溶于乙醇。

理化参数 熔点203°（分解）。$[\alpha]_D^{25}-18.2°$（$C=2$，2mol/L盐酸），$[\alpha]_D^{25}+8.8°$（$C=1\sim2$，水）。

制备方法[1] L-高丝氨酸结晶的母液〔参阅L-高丝氨酸（Ⅱ-1(1)-0058）制备方法〕减压浓缩至干。残渣溶于少量水，以10mol/L 盐酸调至 pH1.7。用乙酸乙酯萃取几次。合并萃取液，无水硫酸钠干燥后减压浓缩至干。残渣溶于250mL 2mol/L盐酸中，回流 2 小时、活性炭脱色。过滤，滤液减压蒸干。残渣为D-高丝氨酸-γ-内酯单盐酸盐(Ⅰ)，溶于少量水，加入丙酮后，(Ⅰ)成结晶析出。10g(Ⅰ)溶于300mL 水，加20g 碳酸铵粉末回流 3 小时。

溶液减压浓缩至干。残渣溶于少量水，以乙酸调至pH5～6。加入过量无水乙醇，冰浴冷却，出现D-高丝氨酸结晶。滤出结晶，以乙醇洗涤，按L-高丝氨酸重结晶方法重结晶。

贮存 室温。

参 考 文 献

〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2616, 1961.

DL-3-羟谷氨酸 Ⅱ-1(1)-0060

DL-3-Hydroxyglutamic acid

别名 β-羟谷氨酸 β-Hydroxyglutamic acid; 2-Amino-3-hydroxypentanedioic acid

结构式 $HOOC—CH_2—CH(OH)—CH(NH_2)—COOH$

分子式 $C_5H_9NO_5$ **分子量** 163.13

理化性质 自水中得无水菱形或针状结晶（含三分子水），100℃失去水。易溶于热水、乙酸；不溶于乙醇、乙醚。有二种构型：苏糖式和赤藓式。在沸水中苏糖式和赤藓式环化为相应的吡咯烷酮羧酸。

理化参数 熔点 198℃（分解）（赤藓式），193～196℃（分解）（苏糖式）。25℃p$K_1$2.27；p$K_2$4.29，p$K_3$9.66。

制备方法[1]

$$CH_3CH_2OOCCH_2COCH_2COOCH_2CH_3 \cdot \xrightarrow{CH_3CH_2NO_2}$$
(Ⅰ)
$$CH_3CH_2OOCC(=NOH)COCH_2COCH_2CH_3 \xrightarrow[(CH_3CO)_2O]{Zn, CH_3COOH}$$
(Ⅱ)
$$CH_3CH_2OOC(NHCOCH_3)COCH_2COCH_2CH_3 \xrightarrow{Ni, H_2}$$
(Ⅲ)
$$CH_3CH_2OOCH(NHCOCH_3)CH(OH)CH_2COCH_2CH_3 \longrightarrow$$
(Ⅳ)
$$HOOCCH(NH_2)CH(OH)COOH$$
(Ⅴ)

20g丙酮二羧酸乙酯(Ⅰ)溶于200mL乙醚，缓慢通入干氯化氢气，同时加入亚硝酸乙酯的乙醚溶液（50mL内有亚硝酸乙酯8.4mL）。每次加10mL，待前次加入后出现的颜色褪去后再加入。加完后继续通氯化氢气15分钟，然后放置数小时。蒸去乙醚，用稀碳酸钠溶液萃取残存物2次。合并萃取液，以盐酸酸化，与乙酸混合振荡4次。合并乙醚萃取液，经无水硫酸钠干燥，过滤后滤液蒸去乙醚。残渣为肟酯(Ⅱ)。将(Ⅱ)溶于400mL乙酸中，在搅拌下加入下列混合物内：400mL乙酸酐与800mL乙酸内有500g锌粉悬浮。约2小时加完，其间温度控制在10～15℃，加毕，升温至室温，继续搅拌3小时。过滤。滤液减压浓缩至浆状。残渣与250mL水及500mL三氯甲烷共同振荡，水层再一次用三氯甲烷洗涤。合并三氯甲烷层，相继用碳酸氢钠与水洗涤，无水硫酸钠干燥后过滤。吹入干空气赶去溶剂，残渣溶于500mL无水热乙醚后冷却，收集结晶。母液浓缩后得第二批结晶。二批结晶在乙醚中重结晶，得纯的二乙基α-乙酰胺-丙酮二羧酸(Ⅲ)约235g。129.7g(Ⅲ)溶于1300mL水，25℃，兰尼（Raney）

镍存在下，0.2～0.27MPa压力氢化。约2小时氢化完毕。过滤，滤液减压浓缩成浆。浆状残渣溶于20mL丙酮，加入500mL无水乙醚。冰冷数小时后，出现二种结晶：片状和针状。这是N-乙酰-β-羟谷氨酸二乙酯(Ⅳ)的二种构型的消旋物。重新加热至片状结晶全部溶解，针状结晶只部分溶解。冷却至室温，放置数小时后，只有针状结晶沉淀出来，这是N-乙酰-β-羟谷氨酸二乙酯的赤藓式过滤后的母液，冰冷数小时后有一层片状结晶产生，其上有针状结晶。拣出片状结晶。35g(Ⅳ)的片状结晶与250mL 10%溴化氢溶液回流2小时，溶液减压浓缩至干。残渣溶于水及乙醇，以苯胺调至pH3，析出胶状物。倾出上层液，减压浓缩至干。残渣在95%乙醇中研磨。将二批残渣溶于水中，活性炭脱色，慢慢加入乙醇进行结晶。得DL-3-羟谷氨酸(Ⅴ)的苏糖式结晶。上述针状结晶在15%丙酮的乙醚溶液中重结晶后，按上述步骤同样用溴化氢溶液处理，产物在水中重结晶，得DL-3-羟谷氨酸(Ⅴ)的赤藓式结晶。

贮存 室温。

参 考 文 献

〔1〕 Greenstein, J. P. and Winity, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2421, 1961.

DL-δ-羟赖氨酸 Ⅱ-1(1)-0061

DL-δ-Hydroxylysine

别名 DL-2,6-Diamino-5-hydroxycaproic acid

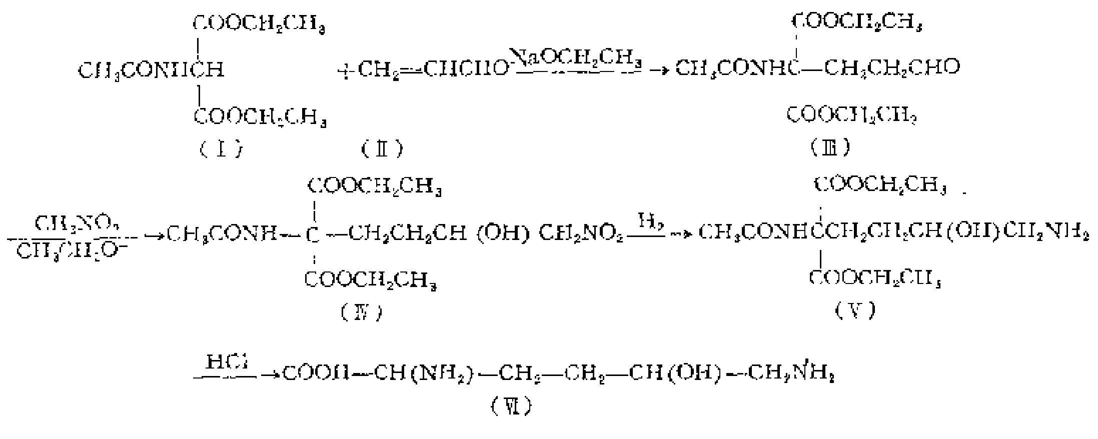
结构式 $CH_2(NH_2)-CH(OH)-CH_2-CH_2-CH(NH_2)-COOH$

分子式 $C_6H_{14}N_2O_3$ **分子量** 162.19

理化性质 DL-δ-羟赖氨酸 盐酸盐是白色结晶，溶于水，不溶于甲醇、乙醇、乙酸乙酯。

理化参数 熔点223～227℃（分解）（盐酸盐）。

制备方法[1]



175g乙酰胺丙二酸二乙酯(Ⅰ)与62mL丙烯醛(Ⅱ)在含有100mg金属钠的200mL无水乙醇中缩合。在缓慢的搅拌下，加入到下列混合物中去：200mL硝基甲烷（含4g氢氧化钠），20mL水，20mL二氧六环。搅拌持续16小时，补加1g氢氧化钠，继续搅拌24小时。溶液以9mL冰乙酸处理，减压浓缩至原体积的1/3。加入苯，产物(Ⅳ)沉淀，滤出。母液减压浓缩后再加苯，又得到(Ⅳ)。反复进行，最后得到约185g(Ⅳ)的粗品。在1:1甲醇-水中

重结晶得纯(Ⅳ)。22g(Ⅳ)溶于含有几滴浓盐酸的150mL无水乙醇，加入0.5g氧化铂催化剂，室温2.2MPa压力下氢化。滤去催化剂，乙醇溶液减压蒸干。残渣为玻璃状固体(Ⅴ)，约19g。将Ⅴ溶于70mL 20%盐酸，回流23小时。活性炭脱色后，减压浓缩成浆状。浆状残渣溶于少量水，加2mol/L氢氧化锂溶液至刚果红试纸呈碱性。用干净、干燥的空气对着液面吹，直至溶液浓缩至约10mL。加入4倍体积的无水乙醇，羟赖氨酸盐酸盐沉淀。冰冷几小时后，抽气过滤，δ-羟赖氨酸盐酸盐结晶以乙醇洗涤，在少量水中溶解，加入乙醇重结晶。此时结晶(Ⅵ)是DL-δ-羟赖氨酸和DL-别-δ-羟赖氨酸混合物。将上述混合物(Ⅵ)溶于水，以盐酸调至pH2.0在Dowex 50阳离子交换树脂柱（以0.2mol/L乙酸缓冲液，pH3.4）上层析。室温下以0.1mol/L磷酸钠缓冲液，pH7.5洗脱。洗下二峰，前一峰为DL-δ-羟赖氨酸，第二峰为DL-别-δ-羟赖氨酸。

贮存　室温。

参 考 文 献

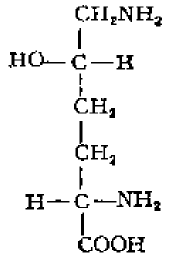
〔1〕 Van Zyl, G., Van Tamelen, E. E. and Zuidema, G. D.: *J. Am. Chem. Soc.*, 73, 1765(1951).

L-δ-羟赖氨酸　　Ⅱ-1(1)-0062

L-δ-Hydroxylysine

别名　L-2,6-Diamino-5-hydroxycaproic acid

结构式



分子式　$C_6H_{14}N_2O_3$　　**分子量**　162.19

理化性质　L-δ-羟赖氨酸盐酸盐为不潮解的白色结晶。在6mol/L盐酸中，120℃12小时，10%消旋成为D-别-δ-羟赖氨酸，24小时25%消旋成为D-别-δ-羟赖氨酸。

理化参数　熔点225℃（分解）（盐酸盐）。38℃，$I=0.1$ pK_1 2.13，pK_2 8.62，pK_3 9.67；$[\alpha]_D^{25}$ +17.8°($C=2$，5mol/L盐酸)。

制备方法[1]　198.5g δ-羟赖氨酸〔参阅DL-δ-羟赖氨酸（Ⅱ-1(1)-0061）制备方法中产物(Ⅵ)〕溶于1L水，加热至90℃。250g碳酸铜分10次加入，滤去过量的碳酸铜，滤液冰冷之。以2mol/L氢氧化钠维持pH在8.5～9.5之间，冷却并搅拌下加入220mL苄氧羰酰氯，1小时内加毕。继续搅拌30分钟使反应完全。抽气过滤，滤渣以少量水及乙醇洗涤，悬浮于2L水，通入硫化氢气体至饱和。煮沸混合物，加入活性炭过滤，无色透明的滤液冰冷之。第二天滤出ε-苄氧羰基-δ-羟赖氨酸，约130g。母液减压浓缩至原先体积的1/2，冰冷后5℃放置，又可得约80g结晶。母液进一步浓缩至约100mL，5℃放置几天，又可得15g左右结晶。总产量约225g。296.2g ε-苄氧羰基-δ-羟赖氨酸溶于500mL 2mol/L氢氧化钠，冰冷，搅拌下加入150g氯乙酰氯的乙醚溶液，以2mol/L氢氧化钠维持溶液pH在9.5～10.0之间。

约45分钟以后，加入5mol/L盐酸至刚果红试纸呈酸性。分出的油状物溶于乙酸乙酯。乙酸乙酯溶液以无水硫酸钠干燥，干空气吹至小体积，加入过量石油醚，沉淀出半固体产物。倾去上清液，残渣溶于少量乙酸乙酯，再加入过量石油醚沉淀。沉淀为α-氯乙酰-ε-苄氧羰基-δ-羟赖氨酸内酯，产量约250g。将上述α-氯乙酰-ε-苄氧羰基-δ-羟赖氨酸内酯在乙酸乙酯中重结晶2次，得产物90g。二次母液放置，又得15g结晶。母液用于分离其他异构体。二批结晶合并，在乙酸乙酯中重结晶，得约65g结晶。母液浓缩至原体积的1/2，5℃放置，又得一些结晶，在苯中重结晶后约重16g。合并这二批结晶计81g，纯的α-氯乙酰-ε-苄氧羰基-DL-羟赖氨酸内酯。17.7g上述内酯悬浮于800mL水，加入1～2滴酚红溶液，以2mol/L氢氧化锂处理，保持溶液pH稳定在7.2。以水稀释至1L，加入750mg酰化酶Ⅰ，放入38℃水浴中保温。约3天后，调正溶液pH至7.2，加入400mg酰化酶Ⅰ。每3天重复上述步骤1次，直至二个星期。加入冰乙酸调至pH5，借助少量活性炭滤去蛋白质。滤液减压浓缩至约100mL，加入80%无水乙醇至乙醇浓度为80%。抽气过滤，沉淀依序用冷水，乙醇，乙醚洗涤后干燥。母液用于制备D-异构体。干燥的沉淀溶于少量沸水，以少量活性炭处理后过滤，滤液用沸无水乙醇加至乙醇浓度为80%。沉淀过滤并干燥，再一次重复上述重沉淀步骤。沉淀为纯的ε-苄氧羰基-L-羟赖氨酸，产量约3.2g。3g上述产物溶液溶于甲醇与15mL 2mol/L盐酸混合物中；在钯黑存在下催化氢化。滤去催化剂后，滤液减压浓缩至干。残渣溶于少量水，以碳酸锂调至pH～6。加无水乙醇至乙醇浓度为80%，得L-δ-羟赖氨酸盐酸盐。在水-乙醇中重结晶，产量约1.12g。

贮存　室温。

参考文献

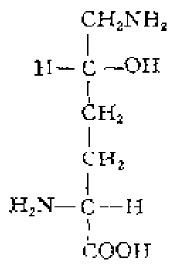
[1] Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol 3, J. Wiley. and Sons, Inc. 2012, 1961.

D-δ-羟赖氨酸　　Ⅱ-1(1)-0063

D-δ-Hydroxylysine

别名　D-2,6-Diamino-5-hydroxycaproic acid

结构式



分子式　$C_6H_{14}O_3N_2$　　**分子量**　162.19

理化性质　D-δ-羟赖氨酸盐酸盐为白色结晶。

制备方法[1]　ε-苄氧羰基L-羟赖氨酸沉淀后的母液〔参阅L-δ-羟赖氨酸（Ⅱ-1(1)-0062）制备方法〕用空气吹干。残渣溶于水，冷却下以5mol/L盐酸调至刚果红呈蓝色。分出的油状物以乙酸乙酯萃取。萃取液经无水硫酸钠干燥后，用干燥空气吹干。残渣溶于甲醇，以25mL/5mol/L盐酸处理，在钯黑存在下催化氢化。氢化完全后滤去催化剂，滤液浓缩成

浆。浆状残渣是不纯的α-氯乙酰-D-羟赖氨酸，溶于100mL/mol/L盐酸，回流2小时。趁热加入活性炭处理后过滤。滤液减压浓缩至干，加 水 再 浓 缩，共2次。浆状残渣溶于少量水，以碳酸锂调至pH6，加无水乙醇至乙醇浓度80%，D-δ-羟赖氨酸盐酸盐粗品沉淀，以乙醇、乙醚洗涤。五氧化二磷真空干燥器内干燥。产量约3.2g，溶于20mL水、将pH调至6，加入*Bacillus cadaveris*粉的悬浮液（400mg干*Bacillus cadaveris*粉/100mL水）。38℃振荡12小时，以乙酸调至pH4，离心。上清液减压浓缩至干。残渣溶于少量水，以吡啶调至pH6后加乙醇，浓度为80%。光学性质纯的D-δ-羟赖氨酸盐酸盐迅即结晶析出，冰冷几小时后，抽气过滤。结晶以无水乙醇及乙醚洗涤后干燥。产量2.8g。

贮存　室温。

参 考 文 献

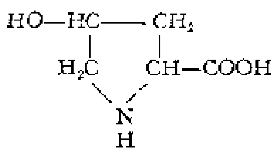
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M. : "Chemistry of the Amino Acids" Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2013, 1961.

DL-羟脯氨酸　　Ⅱ-1(1)-0064

DL-Hydroxyproline

别名　DL-4-Hydroxyproline；DL-4-Hydroxy-pyrrolidine-2-carboxylic acid

结构式

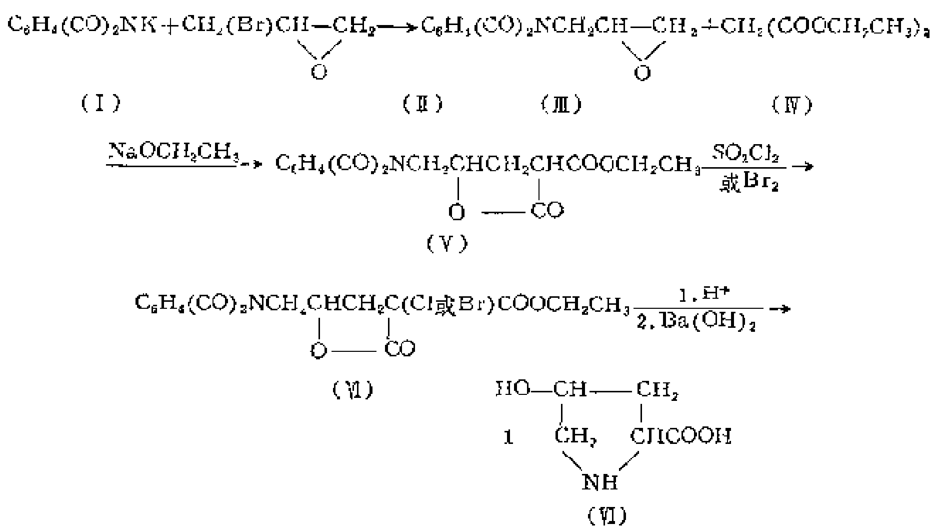


分子式　$C_5H_9NO_3$　　**分子量**　131.13

理化性质　结晶。溶于水；微溶于乙醇；不溶于乙醚。

理化参数　熔点247℃（分解）。

制备方法[1]



将干的邻苯二甲酰亚胺钾盐（Ⅰ）磨成粉末与3倍过量的环氧溴丙烷（Ⅱ）混合，在油浴中加热至刚起泡，减压蒸干，冰冷，加入冰水搅拌直至固化。过滤，固体干燥后在乙醇中重结晶（Ⅲ）。80g丙二酸二乙酯（Ⅳ），105g（Ⅲ）加于140mL金属钠的甲醇溶液（含钠11.5g）。

小心加热，待剧烈反应过去后，避潮回流2.5小时。减压蒸去乙醇，残渣倒入稀盐酸与冰的混合物中。出现的粘性物质迅即固化。过滤，固体用水洗后干燥，在稀的乙醇溶液中重结晶(V)。9.5g(V)溶于100mL冰乙酸，搅拌下滴加4.3g 磺酰氯，70℃加热2小时，减压蒸干。残渣用水洗几次，溶于100mL冰乙酸及100mL浓盐酸，回流3小时。减压浓缩至干，加水，滤去不溶的苯甲酸沉淀。滤液以氢氧化钡溶液中和后，再添加12.6g氢氧化钡。回流6小时，冷却后过滤。滤液以盐酸中和后倒入Dowex 50(H^+)阳离子交换树脂柱。以水淋洗至流出液对刚果红试纸呈碱性反应。用200mL 2mol/L氢氧化铵洗脱，收集的洗脱液减压浓缩至干。残渣溶于约60mL水，如有必要以活性炭脱色。加入10g碳酸铜，回流1小时。趁热过滤，滤液冰冷后DL-羟脯氨酸的铜盐结晶（含4分子水）。滤出结晶，以水洗涤后，110℃干燥。母液可留作制备DL-别-羟脯氨酸。DL-羟脯氨酸铜盐悬浮于50倍水中，加几滴冰乙酸，通硫化氢气至饱和。滤去硫化铜沉淀，滤液减压蒸干。残渣溶于少量热水。过滤，滤液以4倍量乙醇处理。DL-羟脯氨酸结晶，得率近理论值。

贮存　室温。

参考文献

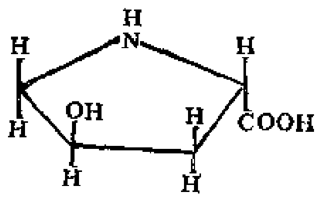
[1] Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2032, 1961.

L-羟脯氨酸　　Ⅱ-1(1)-0065

L-Hydroxyproline

别名　*trans*-4-Hydroxy-L-proline；L-4-Hydroxyproline；L-4-Hydroxy-pyrrolidine-2-carboxylic acid

结构式



分子式　$C_5H_9NO_3$　　**分子量**　131.13

理化性质　菱形片状结晶或细针状结晶。溶于水；微溶于乙醇；不溶于乙醚。

理化参数　熔点273～274℃（分解）。$[\alpha]^{25}_{D}$ -50.5°(C=2，5mol/L盐酸)，-76.0°(C=2，水)；25℃ $pK_1$1.82，$pK_2$9.66。

制备方法[1]　200g明胶与2L 6mol/L盐酸回流6小时，减压浓缩至干。反复加水，减压浓缩多次除去过量的氯化氯。最后残渣加水溶解，稀释至1L。加入2,4-二硝基-1-萘酚-7-磺酸70g，滤去生成的精氨酸-2,4-二硝基-1-萘酚磺酸盐。滤液加水稀释至5L，70℃，搅拌下缓慢加入200g磷钨酸的浓溶液，加完后在20℃放置数小时。生成的赖氨酸及组氨酸(以及部分脯氨酸）的磷钨酸盐滤去之。滤液中的磷钨酸及2,4-二硝基-1-萘酚磺酸以氨水与乙醚的混合物萃取。无色的水层减压浓缩至250mL，加热至60℃，搅拌下加入雷氏（Reinec-

ke）盐溶液*(23.5g Reinecke盐溶于 2600mL水)。继续在 5℃搅拌数小时，过滤，得170g结晶。在结晶仍润湿时立即加入硫酸铜溶液（120g 五水硫酸铜溶于600mL水），70℃保温 2小时，其间通入二氧化硫气体。冷却，过滤，用水洗沉淀至水洗液无色。合并洗涤液及滤液，煮沸，以3～5g 硫酸银处理。冷却，加入活性炭，过滤。滤液通硫化氢至饱和，过滤。滤液加入过量氢氧化钡，过滤。滤液减压浓缩至小体积，过量的钡离子用硫酸根定量除去。过滤后的滤液减压浓缩至接近干。残渣溶于少量水，加入乙醇，L-羟脯氨酸结晶，在水-乙醇中重结晶 2 次，产量约12～14g。

贮存 室温。

参 考 文 献

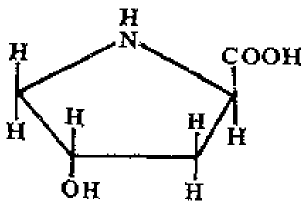
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, I Wiley and Sons, Inc. 2025, 1961.

D-羟脯氨酸　　　　Ⅱ-1(1)-0066

D-Hydroxyproline

别名 4-Hydroxy-D-proline; D-4-Hydroxy-pyrrolidine-2-carboxylic acid

结构式



分子式 $C_5H_9NO_3$　　　　**分子量** 131.13

理化性质 结晶。溶于水。

制备方法[1] 131gD-别羟脯氨酸悬浮于 1500mL 冰乙酸中，加热至沸，仔细加入 102g 乙酸酐。溶液慢慢冷却至25℃，减压浓缩成一厚的黄色浆状物。此浆状物溶于200mL丙酮，过滤后滤液－5℃放置数小时。生成的*N*-乙酰-D-别羟脯氨酸（Ⅰ）以冷丙酮洗涤，在无水乙醇中重结晶。143g（Ⅰ）溶于2.6L 无水二氧六环，冷至－10℃，以重氮甲烷的无水乙醚溶液（制自500g*N*-甲基-*N*-亚硝基-*N*-硝基胍）处理。混合物0℃放置几小时，室温下减压浓缩成黄色油状物为*N*-乙酰-D-别羟脯氨酸甲酯(Ⅱ)，溶于200mL 无水吡啶，冷至－10℃，以152g 在无水苯中重结晶的对甲苯磺酰氯处理。0℃放置几小时后倒入3L 冰冷的1mol/L盐酸中，0℃放置1天。抽气过滤生成的*N*-乙酰-*O*-甲苯基-*p*-磺酰-D-别羟脯氨酸甲酯(Ⅲ)，用少量冰水洗涤，五氧化二磷真空干燥器内干燥。在乙醚-乙醇（2:1）中重结晶。190g(Ⅲ)溶于 5 倍重量温热甲醇，冰冷之。这个结晶悬浮液与 562.6mL 1 mol/L 氢氧化钠溶液在5℃振荡18小时，结晶溶解。加入562.6mL1mol/L盐酸，减压浓缩成厚油状物。以乙酸乙酯抽提，

---

* Reinecke盐的制备．800g硫氰酸铵在搅拌下加热至145～150℃。170g研细的重铬酸铵与200g硫氰酸铵混合均匀，搅拌下分批加入，每次10～12g。加过几次后，反应变得非常剧烈，有氨放出，温度上升至160℃。停止加热。继续投入维持温度约160℃。最后一份投入后，冷却前将固体尽量粉碎成小块。加入750mL水，搅拌15 分钟。过滤，滤液弃去。固体物在搅拌下加到65℃的2.5L水中，迅速加热至60℃，乘热过滤。冷却后 Reinecke 盐结晶析出，在五氧化二磷干燥器内干燥。

抽提液经无水硫酸钠干燥，空气吹干。残渣以过量石油醚处理。反复溶于乙酸乙酯后用石油醚沉淀，油状物结晶为*N*-乙酰-*O*-甲苯基-*p*-磺酰-D-别羟脯氨酸（Ⅳ）。16g（Ⅳ）先以195.7mL0.5mol/L氢氧化钠在100℃处理20分钟，冷却后，加入和氢氧化钠溶液等体积的0.5mol/L盐酸，40℃减压浓缩至干。以热丙酮萃取残渣6次，每次50mL。合并萃取液，减压浓缩成黄色浆状物，溶于100mL1mol/L盐酸，回流2小时。趁热用活性炭脱色，减压浓缩至干。加入10mL水再减压蒸干，共2次。浆状残渣溶于5mL水，冷却，加2mol/L氢氧化锂使溶液pH为6，加入无水乙醇至乙醇浓度为90%，D-羟赖氨酸结晶。

贮存　室温。

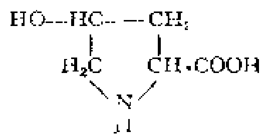
参 考 文 献

〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.:"Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2038, 1961.

DL-别羟脯氨酸　　Ⅱ-1(1)-0067

DL-allo-Hydroxyproline

结构式



分子式　$C_5H_9NO_3$　　**分子量**　131.13

理化性质　结晶。溶于水；微溶于乙醇；不溶于乙醚。

理化参数　熔点238℃(分解)。

制备方法[1]　DL-羟脯氨酸铜盐结晶后的母液（参阅DL-羟脯氨酸（Ⅱ-1(1)-0064）制备方法）减压蒸干，残渣溶于10mL热水，趁热过滤。滤液中加400mL乙醇，析出DL-别羟脯氨酸铜盐结晶。过滤，以乙醇洗结晶，并干燥之。将DL-别羟脯氨酸铜盐悬浮于50倍水中，加几滴冰乙酸，通硫化氢气至饱和。滤去硫化铜沉淀，滤液减压蒸干。残渣溶于少量热水。过滤，滤液以4倍量乙醇处理。得DL-别羟脯氨酸结晶，得率近理论值。

贮存　室温。

参 考 文 献

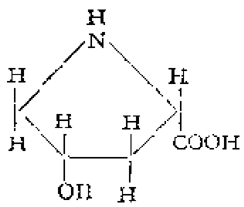
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.:"Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc, 2032, 1961.

L-别羟脯氨酸　　Ⅱ-1(1)-0068

L-*allo*-Hydroxyproline

别名　*cis*-4-Hydroxy-L-proline

结构式



分子式 $C_5H_9NO_3$ **分子量** 131.13

理化性质 结晶。溶于水；微溶于乙醇；不溶于乙醚。

理化参数 熔点240℃(分解)。$[\alpha]_D^{23}$ －18.8°（C=2，5mol/L盐酸），－59.5°(C=2，水)。

制备方法[1] 131gL-羟脯氨酸悬浮于1500mL冰乙酸中，加热至沸。待全溶后仔细地加入102g乙酸酐，慢慢冷却至25℃，减压浓缩成黄色厚浆状物。浆状物溶于200mL丙酮，过滤，滤液在－5℃冷却几小时。滤出生成的N-乙酰-L-羟脯氨酸，以冷丙酮洗涤，在无水乙醇中重结晶。143gN-乙酰-L-羟脯氨酸溶于2.6L无水二氧六环。溶液冷至－10℃，以重氮甲烷的无水乙醚溶液处理之（由500gN-甲基-N-亚硝基-N-硝基胍制取)。0℃放置数小时，或到不冒泡为止。室温下减压浓缩得黄色油状的N-乙酰-L-羟脯氨酸甲酯，溶于200mL无水吡啶中。溶液冷至－10℃，用152g对甲苯磺酰氯（事先在无水苯中重结晶）处理。0℃放置数小时，倒入3L冰冷的1mol/L盐酸中，0℃放置一天。结晶出的N-乙酰-O-甲苯基-p-磺酰-L-羟脯氨酸甲酯抽气过滤，用少量水洗涤，五氧化二磷真空干燥器内干燥。产物溶解在温热乙酸乙酯中，过滤，滤液用干空气吹液面进行浓缩。重结晶的N-乙酰-O-甲苯基-p-磺酰-L-羟脯氨酸甲酯洗涤后干燥。200g重结晶的N-乙酰-O-甲苯基-p-磺酰-L-羟脯氨酸甲酯溶于400mL甲醇，冷至5℃，用592.3mL1mol/L氢氧化钠处理。5℃放置18小时，加入592.3mL1mol/L盐酸。滤出生成的N-乙酰-O-甲苯基-p-磺酰-L-羟脯氨酸，母液可进一步在35℃减压浓缩再得到一些晶体。取17.2gN-乙酰-O-甲苯基磺酰-L-羟脯氨酸酯溶于210.4mL0.5mol/L氢氧化钠，在沸水浴上加热20分钟，迅速冷至25℃，加入105.2mL1mol/L盐酸。40℃减压浓缩至干，残渣用热丙酮萃取6次，每次50mL，萃取液合并后过滤，滤液减压浓缩成一厚黄色浆状物。加入100mL1mol/L盐酸回流2小时，趁热加入活性炭，过滤，滤液减压浓缩至干。加水100mL再减压蒸干，共2次。残渣溶于5mL水，冷却，以2mol/L氢氧化锂调至pH6，加入乙醇至乙醇浓度为90%。L-别羟脯氨酸结晶析出，在水-乙醇中重结晶。

贮存 室温。

参考文献

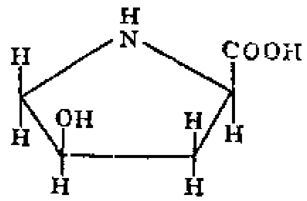
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.:"Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2037, 1961.

D-别羟脯氨酸 Ⅱ-1(1)-0069

D-*allo*-Hydroxyproline

别名 *cis*-4-Hydroxy-D-proline

结构式



分子式 $C_5H_9NO_3$ **分子量** 131.13

理化性质 结晶。溶于水。

制备方法[1] 131gL-羟脯氨酸悬浮于1500mL冰乙酸及510g乙酸酐。回流4小时，减压浓缩成一深棕色浆状物。浆状物溶于1800mL2mol/L盐酸，回流2小时。趁热用活性炭脱色，过滤后滤液减压蒸干。残渣溶于2L水，与略为过量的碳酸银振荡。抽气过滤，滤液通入硫化氢气。滤去硫化银沉淀后，滤液减压浓缩至约200mL，内含L-羟脯氨酸（25%）和D-别羟脯氨酸（75%）。溶液加乙醇至乙醇浓度为90%，有结晶沉淀出来。室温放置15分钟后滤出。结晶为D-别羟脯氨酸，在水-乙醇中重结晶二次得纯品。

贮存 室温。

参 考 文 献

〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2038, 1961.

DL-异白氨酸 Ⅱ-1(1)-0070

DL-Isoleucine

别名 DL-异亮氨酸；DL-α-Amino-β-methyl-valeric acid.

结构式 $CH_3—CH_2—CH(CH_3)—CH(NH_2)—COOH$

分子式 $C_6H_{13}NO_2$ **分子量** 131.17

理化性质 自乙醇水溶液中得菱形或单斜晶体。溶于水(25℃ 2.23g/100mL水，75℃4.61g/100mL水)，热乙醇、热冰乙酸；不溶于乙醚。

理化参数 熔点292℃(分解)。25℃ $pK_1$2.32，$pK_2$9.76。

制备方法[1] 54g苯酰氨基乙酸与24g无水乙酸钠悬浮于1300mL甲乙酮中，在搅拌下30分钟内滴加76mL乙酸酐。避潮回流2小时。蒸出约1L甲乙酮，油状残渣用300mL水稀释，加入固体碳酸氢钠直至不再释放气泡（约200g）。生成的2-苯基-4-异亚丁基-5-噁唑酮(Ⅰ)用乙醚萃取。减压蒸馏萃取液（沸程107～120℃，20Pa），得浅黄色油状物。将(Ⅰ)21.2g，乙酸140mL，氢碘酸100mL(55%W/W)，及红磷6g混合，回流90分钟。过滤，滤液减压浓缩至干。加入少量水，以苯萃取溶液中的苯甲酸。水层减压浓缩至干。残渣溶于乙醇，将溶液pH调至湿的刚果红试纸呈碱性。冰冷后放置，异白氨酸粗品析出。在水-乙醇中重结晶几次，得5.4g产物，其中DL-异白氨酸含量60～80%，其余为DL-别异白氨酸。131g上述DL-异白氨酸和DL-别异白氨酸混合物与1.5L冰乙酸和255g乙酸酐回流2小时。冷至30℃，放置2～4小时后减压蒸至一厚浆状黄色残渣。加入200mL水，减压蒸去。如果不结晶则在5℃放置24小时。布氏漏斗收集结晶，以100mL冰水洗涤2次。则为乙酰-DL-别异白氨酸粗品。母液减压浓缩成厚浆，溶于500mL2mol/L盐酸，回流2小时。趁热加入2g活性炭，过滤清亮的滤液减压浓缩成厚浆。溶于少量水，以25%甲胺调至pH6，加无水乙醇至乙醇浓度为

90%。冰冷20小时，过滤，结晶以冷水，乙醇及乙醚依序洗涤。得到的混合氨基酸主要是DL-异白氨酸，夹杂有DL-别异白氨酸。从复上述乙酰化的过程，直至达到要求的纯度。

贮存 室温。

参 考 文 献

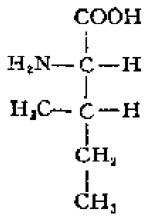
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2061, 1961.

L-异白氨酸 Ⅱ-1(1)-0071

L-Isoleucine

别名 L-异亮氨酸；L-α-Amino-β-methyl-valeric acid

结构式



分子式 $C_6H_{13}NO_2$ **分子量** 131.18

理化性质 自乙醇中得菱形小叶片状或片状结晶。溶于水（25℃4.12g/100mL水，75℃6.08g/100mL水）、乙醇（20℃0.072g/100ml乙醇）、热冰乙酸；不溶于乙醚。

理化参数 熔点285～286℃(分解)。$[\alpha]_D^{25}$ +39.5°(C=1, 5mol/L盐酸)，-12.4°（C=1，水）。

制备方法[1] 13.1gD-别异白氨酸溶于150mL沸冰乙酸，以20.4g乙酸酐处理。混合物蒸汽浴上防潮加热2小时。减压浓缩得黄色浆状物。溶于150mL冰乙酸，煮沸，仔细加入20.4g乙酸酐。冷却至25℃，减压浓缩至干。加入50mL水，减压蒸干。上述操作再重复一次。残渣溶于100mL丙酮，过滤后，滤液减压蒸干。残液以50mL无水乙醚洗涤3次，成白色结晶物为乙酰-L-异白氨酸与乙酰-D-别异白氨酸混合物。从上述混合物制取L-异白氨酸的方法完全同从DL-别异白氨酸拆分D-别异白氨酸及L-别异白氨酸，请参阅"L-别异白氨酸"制备方法。

贮存 室温。

参 考 文 献

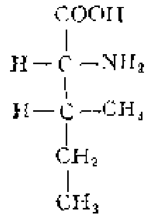
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2069, 1961.

D-异白氨酸 Ⅱ-1(1)-0072

D-Isoleucine

别名 D-异亮氨酸；D-α-Amino-β-methyl-valeric acid

结构式



分子式 $C_6H_{13}NO_2$ **分子量** 131.17

理化性质 片状结晶。溶于水，不溶于乙醚。

理化参数 熔点283～284°(分解)。$[\alpha]_D^{25}$ －39.5°（C＝1，5mol/L 盐酸），＋12.4°(C＝1，水)。

制备方法[1] 13.1g L-别异白氨酸乙酰化，步骤和D-别异白氨酸乙酰化完全相同〔参阅L-异白氨酸（Ⅱ-1(1)-0071）制备方法〕，得到乙酰-L-别异白氨酸和乙酰-D-异白氨酸混合物。34.6g上述混合物经DL-别异白氨酸拆分D-别异白氨酸和L-别异白氨酸同样方法处理〔参阅L-别异白氨酸（Ⅱ-1(1)-0073）制备方法〕，L-别异白氨酸结晶后的母液与洗涤液合并，减压浓缩至干，加入100mL水，再减压蒸干。这个步骤再重复2次。残渣溶于200mL水，冰冷后以浓盐酸调至pH1.7。加入250mL乙酸乙酯振荡15分钟。水层用乙酸乙酯再萃取5次。合并乙酸乙酯萃取液，用100g无水硫酸钠干燥2小时。过滤，滤液减压浓缩成黄色厚浆，溶于250mL无水丙酮，过滤，滤液减压浓缩至干。残渣溶于150mL2mol/L盐酸，回流2小时，热溶液以活性炭处理，过滤后滤液减压浓缩至干。残渣2次溶于50mL水，每次减压蒸干。这个结晶残渣是D-异白氨酸盐酸盐，溶于50mL水，滴加重蒸苯胺至pH5～6，加乙醇至乙醇浓度为90%。5℃放置18小时，结晶以大量乙醇洗涤。在热水-乙醇中重结晶得D-异白氨酸纯品。

贮存 室温。

参 考 文 献

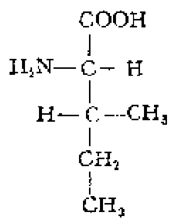
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2069, 1961.

L-别异白氨酸 Ⅱ-1-(1)-0073

L-*allo*-Isoleucine

别名 L-别异亮氨酸；L-*allo*-α-Amino-β-methylvaleric acid

结构式



分子式 $C_6H_{13}NO_2$ **分子量** 131.17

理化性质 小叶或片状结晶。溶于水(20℃2.9g/100ml水)；微溶于乙醇，不溶于乙醚。

理化参数 熔点278～281℃(分解)。$[\alpha]_D^{25}$ ＋39.6°(C＝1，5mol/L 盐酸)，＋15.9°(C＝1，

水)。25℃$pK_1$2.27，$pK_2$9.62。

制备方法[1] 自合成的 DL-异白氨酸和 DL-别异白氨酸混合物分离得到的乙酰-DL-别异白氨酸结晶（参阅DL-异白氨酸（Ⅱ-1(1)-0070)制备方法），溶于沸腾的冰乙酸-水（1:1）混合物，冷至5℃，乙酰-DL-别异白氨酸成棱柱形结晶沉淀。34.6g研碎的乙酰-DL-别异白氨酸悬浮于1.5L水中，加入0.5g乙酸钴，滴加3mol/L氢氧化铵至溶液pH为7.5。10mg干的酰化酶Ⅰ粉末加于上述已全溶的溶液，以水稀释至2L。38℃保温18小时后，冷却至25℃，滴加乙酸，溶液pH降至5.0。加入10g活性炭，振荡1小时。过滤，滤渣以50mL水洗2次。合并滤液及洗涤液，20℃减压浓缩至约100mL。L-别异白氨酸在浓缩后期结晶。全部浓缩物加乙醇至乙醇浓度为80%。5℃放置18小时后，抽气过滤L-别异白氨酸结晶，以乙醇洗几次。母液与乙醇洗涤液供制备D-别异白氨酸用。上述L-别异白氨酸结晶溶于最低量沸水中，以活性炭处理，快速过滤，滤液加热至沸，细心地加入沸无水乙醇至乙醇浓度为90%，当开始出现结晶而溶液仍热时，迅速过滤，滤液在-5℃放置18小时。生成的纯L-别异白氨酸结晶以乙醇、乙醚洗涤，78℃，133Pa压力下干燥12小时。

贮存 室温。

参 考 文 献

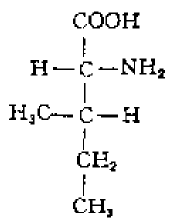
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.:"Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2069, 1961.

D-别异白氨酸 Ⅱ-1(1)-0074

D-*allo*-Isoleucine

别名 D-别异亮氨酸；D-*allo*-α-Amino-β-methylvaleric acid

结构式



分子式 $C_6H_{13}NO_2$ **分子量** 131.17

理化性质 小叶或白色片状结晶。

理化参数 熔点 274～275℃(分解)。$[\alpha]_D^{25}$ -39.6°(C=1，5mol/L盐酸)，-15.9°(C=1，水)。

制备方法[1] 自乙酰-DL-别异白氨酸制取L-别异白氨酸后的母液与洗涤液〔参阅L-别异白氨酸（Ⅱ-1（1)-0073）制备方法〕合并，减压浓缩至干。加入100mL水，再度减压蒸干。这个步骤重复2次。残渣溶于200mL水，冰冷，以浓盐酸调至pH1.7。摩擦器皿壁，析出乙酰-D-别异白氨酸沉淀。5℃放置几小时，抽气过滤，沉淀以50mL冷水洗涤2次，在五氧化二磷和氢氧化钠真空干燥器内干燥，在热水中重结晶。17.3g乙酰-D-别异白氨酸与175mL 2mol/L盐酸回流2小时。趁热用活性炭处理，过滤，滤液减压蒸干。两次以50mL水溶解残渣后蒸干。结晶残渣是D-别异白氨酸盐酸，溶于50mL水，滴加重蒸苯胺至pH5～6。乙醇

加至90%，5℃放置18小时。滤出结晶D-别异白氨酸，以大量乙醇洗涤，在水-乙醇中重结晶。

贮存 室温。

参 考 文 献

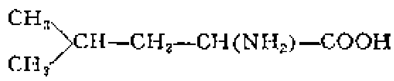
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2068, 1961.

DL-白氨酸　　Ⅱ-1(1)-007

DL-Leucine

别名 DL-亮氨酸；DL-α-Aminoisocaproic acid

结构式

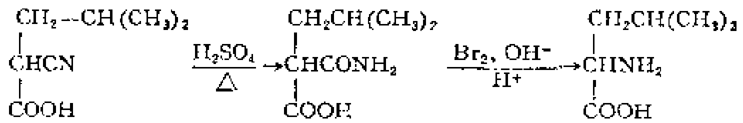


分子式 $C_6H_{13}NO_2$　　**分子量** 131.17

理化性质 自水中得小叶状结晶。溶于水（25℃0.991g/100mL水，75℃2.276g/100mL水）；微溶于75%乙醇、90%乙醇；不溶于乙醚。

理化参数 熔点293～295℃（分解）。25℃p$K_1$2.33，p$K_2$9.74。

制备方法[1]



（Ⅰ）　（Ⅱ）　（Ⅲ）

10g异丁基腈乙酸（Ⅰ）及25mL浓硫酸在蒸汽浴上加热24小时，冷却，倒入50g冰块上，生成的异丁基丙酰胺酸结晶（Ⅱ）过滤后，用水洗涤，在20%乙醇中重结晶，得8g纯（Ⅱ）。3g（Ⅱ）加于7.5mL10%氢氧化钠，依序加入6mL三氯甲烷，最后慢慢加3g溴。冷却混合物，在－10℃一边振摇一边滴加8.5mL冷的10%氢氧化钠。加完时红色（溴）褪去。再加45mL新配10%氢氧化钠，室温放置20小时。分出水层，过滤后用乙酸酸化至pH5，冰冷放置析出DL-白氨酸结晶，产量1.5g。母液浓缩后可再回收0.75g。

贮存 室温。

参 考 文 献

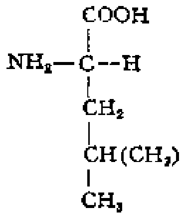
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids" Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2090, 1961.

L-白 氨 酸　　Ⅱ-1(1)-0076

L-Leucine

别名 L-亮氨酸；L-α-Amino isocaproic acid

结构式



分子式 $C_6H_{13}NO_2$ **分子量** 131.17

理化性质 自水中得无色小叶状结晶。溶于水（25℃ 2.19g/100mL 水，75℃ 3.82g/100mL 水）、冰乙酸（10.9g/100mL冰乙酸）；微溶于乙醇；不溶于乙醚。

理化参数 熔点293～295℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}$ +16.0°（$C=2.0$，5mol/L 盐酸），−11.0°（$C=2.0$，水）。

制备方法[1] 2kg 干血红蛋白与 6L25% 硫酸回流 6 小时，冷却，加入等体积水。用氢氧化钡中和硫酸。硫酸钡沉淀滤出后，以热水充分洗涤。滤液与洗涤液合并，减压浓缩至约2L。过滤，滤出的氨基酸结晶。将滤液在0℃放置，又有一些氨基酸结晶。合并两批结晶（约500g），磨细，溶于7.5L沸水，以250gNorit活性炭处理，趁热过滤。滤液中加入1L浓盐酸，1200mL2-溴甲苯-5-磺酸钠盐溶液（含850g钠盐）。冷却后，析出2-溴甲苯-5-磺酸的L-白氨酸盐结晶，在2.5L水中重结晶2次。母液可用于制备L-苯丙氨酸。将上述L-白氨酸盐溶于2.0L热水，加入氯化钡溶液（370g氯化钡溶于500mL热水）。冷至0℃，滤去沉淀，滤液减压浓缩并以氢氧化铵中和，生成的L-白氨酸结晶粗品溶于温热的浓氢氧化铵溶液，活性炭处理后过滤。滤液浓缩至小体积，析出的纯L-白氨酸结晶以乙醇及乙醚洗涤，产量约100g。

贮存 室温。

参 考 文 献

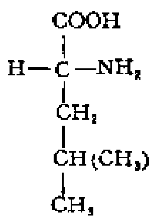
〔1〕 Stein, W. H., Moore, S., Stamm, G., Chou, C. Y., and Bergmann, M.: *J. Biol. Chem.*, 143, 121(1942).

D-白氨酸 Ⅱ-1(1)-0077

D-Leucine

别名 D-亮氨酸；D-α-Amino isocaproic acid

结构式



分子式 $C_6H_{13}NO_2$ **分子量** 131.17

理化性质 结晶。溶于水（25℃ 2.20g/100mL水，50℃2.66g/100mL水）。

理化参数 熔点293℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}$ −16.0°（$C=2.0$，5mol/L 盐酸），+11.0°（$C=2.0$，水）。

制备方法[1] 17.3g 乙酰-DL-白氨酸悬浮于800mL水中，加入1～2滴酚红指示剂，以浓氨

水调至pH7.0～7.2，乙酰 DL-白氨酸溶解。以水稀释至1L，加入12mg酰化酶Ⅰ，38℃保温4小时后，再补加6mg酰化酶Ⅰ，继续保温12小时。反应物以乙酸处理，使pH为4.5。加入活性炭脱色，过滤后，滤液减压浓缩，加入等体积无水乙醇。放置后滤出结晶L-白氨酸。母液减压蒸干。残渣溶于水，再减压蒸干。残渣溶于少量水，以浓盐酸调至刚果红试纸呈酸性。冰冷几小时后，结晶的乙酰-D-白氨酸滤出，以少量冷水洗涤，在水中重结晶。加入10倍量的2mol/L盐酸，回流2小时，减压浓缩至干。残渣溶于少量水，以吡啶调至刚果红试纸呈碱性。如已有D-白氨酸析出，可将溶液煮沸，使结晶的D-白氨酸溶解。整个溶液加入等体积沸无水乙醇。冰冷几小时后，滤出D-白氨酸结晶，以50%乙醇洗至无氯离子为止，在50%乙醇中重结晶。

贮存 室温。

参考文献

〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.:"Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2093, 1961.

DL-正白氨酸　　Ⅱ-1(1)-0078

DL-Norleucine

别名 DL-正亮氨酸；DL-2-氨基己酸 DL-2-Aminohexanoic acid；DL-α-Butylglycine；DL-Glycoleucine

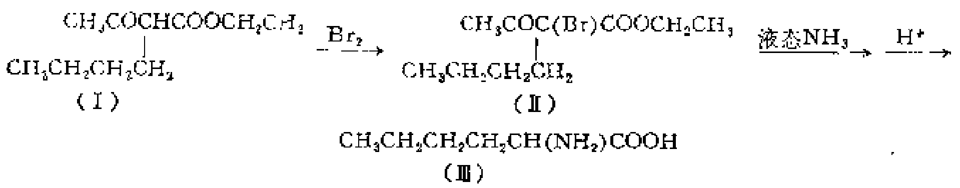
结构式 $CH_3—CH_2—CH_2—CH_2—CH(NH_2)—COOH$

分子式 $C_6H_{13}NO_2$　　**分子量** 131.17

理化性质 闪光片状结晶。溶于水（20℃1.0g/100mL水，100℃ 5.23g/100mL水）；微溶于75%乙醇、乙醇、甲酸、丙酮。

理化参数 熔点295℃（分解），25℃ $pK_1$2.34，$pK_2$9.83。

制备方法[1]



4.65g α-正丁基乙酰乙酸乙酯(Ⅰ)溶于40mL 2mol/L氢氧化钠，冷至-5℃，慢慢加入4g溴。待溴色完全褪去后，混合物用50mL冰水处理，3mol/L硫酸酸化后用乙醚萃取数次。合并萃取液，用冷水洗一次后无水硫酸钠干燥，吹入干空气除去溶剂。残渣(Ⅱ)转入压力釜，加入6.8g液氨，封闭，20℃放置7天，其间不时振荡。冰冷后开釜，减压除去多余的氨。用50mL 6mol/L盐酸溶解残渣，回流3小时，然后脱色，过滤。滤液减压浓缩至干。加水，再减压蒸干去尽过量的盐酸。残渣反复与95%乙醇一齐研磨，每次的95%乙醇抽提液弃去。最后残渣在50%乙醇中重结晶2次，得DL-正白氨酸纯品。

贮存 室温。

参考文献

〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons,

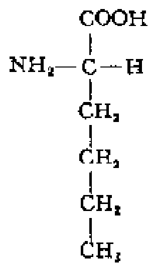
Inc, 2393, 1961.

L-正白氨酸　　Ⅱ-1(1)-0079

L-Norleucine

别名　L-正亮氨酸；L-2-氨基己酸　L-2-Aminohexanoic acid；L-α-Butylglycine；L-Glycoleucine

结构式



分子式　$C_6H_{13}NO_2$　　**分子量**　131.17

理化性质　六方片状结晶。溶于水（25℃1.5g/100mL水）；不溶于乙醇。

理化参数　熔点301℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}+24.5°$（$C=1\sim2$；5mol/L盐酸），$+21.8°$（$C=4$，1mol/L盐酸），$+4.7°$（$C=1\sim2$，水）。

制备方法[1]　L-正白氨酸的制备完全与L-丙氨酸（Ⅱ-1(1)-0002）的制备相同。131.1g(1mol)正白氨酸乙酰化后以酰化酶Ⅰ拆分得L-正白氨酸结晶。

贮存　室温。

参考文献

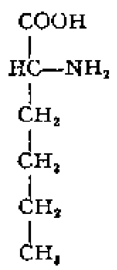
〔1〕 Greenstein, P. and Winitz, M. :"Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2396, 1961.

D-正白氨酸　　Ⅱ-1(1)-0080

D-Norleucine

别名　D-正亮氨酸；D-2-氨基己酸　D-2-Aminohexanoic acid；D-α-Butylglycine；D-Glycoleucine

结构式



分子式　$C_6H_{13}NO_2$　　**分子量**　131.17

理化性质　自水中得片状结晶。溶于水（19℃1.6g/100mL水）。

理化参数　熔点301℃（分解），$[\alpha]_D^{25}-24.5°$（$C=1\sim2$，5 mol/L盐酸），$-22.1°$（$C=4$，

1mol/L盐酸)，$-4.7°$($C=1\sim2$，水)。

制备方法[1]　D-正白氨酸的制备方法完全相同于D-丙氨酸(Ⅱ-1(1)-0003)制备。131.1g (1mol) DL-正白氨酸乙酰化后，以酰化酶Ⅰ拆分，从L-正白氨酸结晶后的母液中分离乙酰-D-正白氨酸，在酸性条件下去除乙酰基得D-正白氨酸。

贮存　室温。

参 考 文 献

〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M. :"Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc 2396, 1961.

DL-赖氨酸　　Ⅱ-1(1)-0081

DL-Lysine

别名　DL-己氨酸；DL-软氨酸；DL-溶氨基酸；DL-松氨酸；DL-α, ε-Diamino eaproic acid

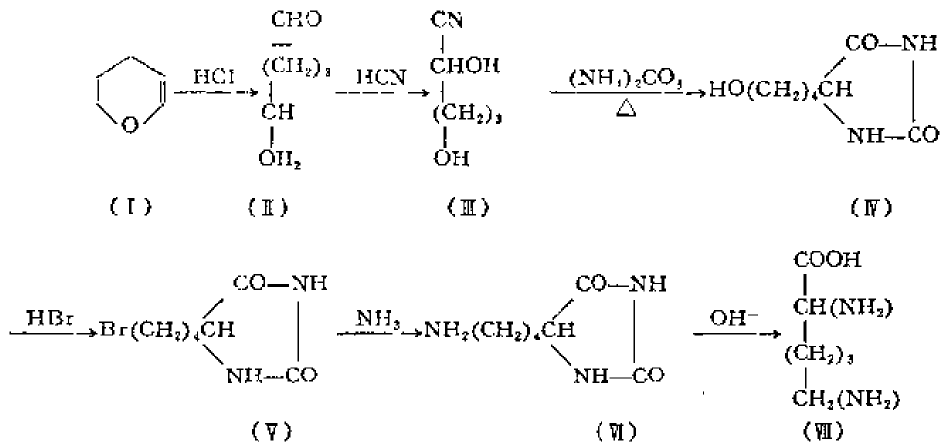
结构式　$CH_2(NH_2)CH_2CH_2CH_2CH(NH_2)COOH$

分子式　$C_6H_{14}N_2O_2$　　**分子量**　146.19

理化性质　DL-赖氨酸盐酸盐是结晶。DL-赖氨酸溶于水；微溶于乙醇。

理化参数　熔点 263～264℃（单盐酸盐），187～189℃（双盐酸盐）。25℃，$I=0.1$ pK_1 2.16，pK_2 9.18，pK_3 10.79。

制备方法[1]



100g二氢吡喃(Ⅰ)与400mL 0.2mol/L盐酸混合，加热至沸。回流1小时，以0.4mol/L氢氧化钠中和至pH7～8。加入12.5g亚硫酰钠干粉，保持反应液温度与室温相同（浸于流动冷水浴中）。待所有的亚硫酸钠溶解后，加入氰化钾溶液（78g氰化钾溶于100mL水），室温下继续搅拌2小时。混合物倒入分液漏斗，水层以乙醚萃取4次，每次250mL。水浴上蒸去乙醚，残渣合并于上层液。此上层液是α,ε-二羟己腈(Ⅲ)，Ⅲ与碳酸铵溶液（230g碳酸铵溶于400mL水）混合，50～55℃搅拌1小时后，加热至沸，加入少许活性炭，过滤，滤液在水浴上蒸干。残渣在水中重结晶，得5-(δ-羟丁基）乙内酰脲(Ⅳ)。3.4g(Ⅳ)与400mL 48%氢溴酸在90℃保温2小时，减压蒸干，残渣溶于300mL沸水，回流5分钟，加少许活性炭，过滤，滤液放冷，滤出沉淀。滤液再次减压蒸干。残渣仍用100mL 48%氢溴酸处理，90℃保温2小时。减压蒸去酸，残渣以活性炭脱色，在30mL热水中结晶，结晶为5-(δ-溴

丁基）己内酰脲(Ⅴ)。23.5g(Ⅴ)与500mL浓氢氧化铵溶液混合，在压力瓶内60℃保温4天。减压蒸干反应混合物，残渣溶于氢氧化钡溶液（78g氢氧化钡8水分子结晶溶于500mL热水），在高压釜内160℃加热半小时。冷却后，过滤，滤液以30g碳酸铵处理。过滤，滤液减压浓缩至干。残渣以过量盐酸酸化后蒸干。残渣溶于苦味酸溶液（23g苦味酸溶于200mL沸水）。冰冷此溶液48小时，分出的结晶过滤后在少量沸水中重结晶。将结晶溶于1L热水，以50mL浓盐酸处理。冰冷后，苦味酸沉淀。过滤，滤液用乙醚萃取其中残存的苦味酸。水层与10g活性炭共同加热，过滤，滤液减压浓缩至干。浆状残渣溶于甲醇，以吡啶调至湿的刚果红试纸呈碱性，DL-赖氨酸单盐酸盐迅即析出。过滤，以乙醇洗涤结晶数次后干燥之。再将结晶溶于少量水，加乙醇至乙醇浓度为80%，得纯的DL-赖氨酸单盐酸盐结晶。

贮存 室温。

参 考 文 献

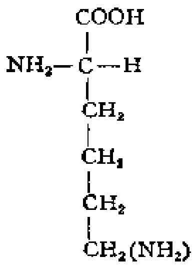
〔1〕 Gaudry, R.: *Can. J. Research*, 26B, 387(1948).

L-赖氨酸　　Ⅱ-1(1)-0082

L-Lysine

别名 L-己氨酸；L-软氨酸；L-溶氨基酸；L-松氨酸；L-α,ε-Diamino caproic acid

结构式



分子式 $C_6H_{14}N_2O_2$　　**分子量** 146.19

理化性质 自乙醇中得扁六边形片状结晶，自水中得针状结晶。易溶于水；微溶于乙醇；不溶于乙醚。

理化参数 熔点 224℃（分解）。$[\alpha]^{23}_{D}$ +25.9°（C=2.0，5mol/L 盐酸），+13.5°（C=2，水）。

制备方法[1] 4L红血球悬浮于4L 50%（V/V）硫酸中，回流24小时。冷却，用水稀释至17L。加入氢氧化钙悬浮液（2.7kg氢氧化钙悬浮于8L水）。滤出沉淀，用水洗涤。滤液和洗涤液合并，真空浓缩至约8L。继续加氢氧化钙至溶液呈强碱性。滤出沉淀，以水洗之。滤液与洗涤液合并浓缩至小体积，低温放置数小时，出现一些结晶（酪氨酸，白氨酸等），过滤，用水洗涤。合并滤液及洗涤液，加水稀释至1.5L。加入150g苦味酸，蒸汽浴上加热至溶。冷却，赖氨酸苦味酸盐析出，以冷水洗涤，在2L沸水中重结晶。结晶溶于2L热水，加入50mL浓盐酸，冷却后滤去析出的苦味酸。滤液用乙醚萃取几次后加入活性炭，加热脱色。过滤，滤液减压浓缩成厚浆。残渣多次加水后减压浓缩至干，去尽多余的盐酸。最后，残渣溶于少量沸腾95%乙醇，过滤后以吡啶的95%乙醇溶液（50%）调至润湿的刚果红试纸不再出现酸性反应。L-赖氨酸单盐酸盐立即沉出。冰冷几小时后，L-赖氨酸单盐酸

盐滤出，以乙醇洗涤，在热水-无水乙醇中重结晶。

贮存 低温（<0℃）保存。L-赖氨酸单盐酸盐及双盐酸盐室温存放。

参 考 文 献

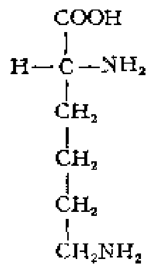
〔1〕 Rice, E. E. : *J. Biol. Chem.*, 137, 1(1939).

D-赖氨酸 Ⅱ-1(1)-0083

D-Lysine

别名 D-已氨酸；D-赖软氨酸；D-溶氨基酸；D-松氨酸；D-α, ε-Diamino caproic acid

结构式



分子式 $C_6H_{14}N_2O_2$ **分子量** 146.19

理化性质 自乙醇中得针状或六边形片状结晶。溶于水、酸；微溶于乙醇、乙醚、三氯甲烷。

理化参数 熔点 224℃（分解）。$[\alpha]^{25}_{D}$ −25.9°（C=2.0,5 mol/L 盐酸），−13.5°（C=2.0，水）。

制备方法[1] 182.5g DL-赖氨酸单盐酸盐溶于 500mL 2mol/L 氢氧化钠，冰浴中冷却。剧烈搅拌下交替滴加250mL氯乙酰氯及1200mL冰冷的2mol/L氢氧化钠，其间保持反应液在−5℃以下及强碱性。约 2 小时加毕，加入1700mL1mol/L硫酸，热至室温，加入少许活性炭摇荡后过滤，滤液40℃减压浓缩至干。残渣以温热丙酮萃取 3 次，每次300mL。合并丙酮萃取液，过滤后滤液以干空气吹去溶剂。黄色油状残渣在5℃与无水乙醚研磨渐渐结晶。结晶的α, ε-二氯乙酰-DL-赖氨酸溶于少量丙酮，加无水乙醚至出现混浊，冰冷至5℃，放置数天，得约200g α, ε-二氯乙酰-DL-赖氨酸（Ⅰ），将产品重结晶。用33.5g（Ⅰ）溶于 800mL水，以2mol/L氢氧化锂调至pH7.0～7.2，加水稀释至1L。加入265mg酰化酶Ⅰ，38℃保温24小时。补加50mg酰化酶Ⅰ，再保温12小时。以乙酸将反应液调至pH5，加入活性炭后过滤，滤液减压浓缩至约100mL。加入无水乙醇至乙醇浓度为80%，析出ε-氯乙酰-L-赖氨酸结晶。母液内为α, ε-氯乙酰-D-赖氨酸。由α, ε-氯乙酰-D-赖氨酸制备D-赖氨酸单盐酸盐的方法完全和D-丙氨酸（Ⅱ-1(1)-0003）制备相同。

贮存 室温（单盐酸盐）。

参 考 文 献

〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M. : "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc 2116, 1961.

DL-甲硫氨酸 Ⅱ-1(1)-0084

DL-Methionine

别名 DL-蛋氨酸；DL-α-Amino-γ-methyl-thio-butyric acid

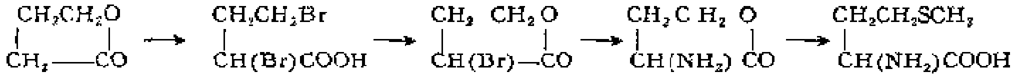
结构式 $CH_3-S-CH_2-CH_2-CH(NH_2)-COOH$

分子式 $C_5H_{11}NO_2S$ **分子量** 149.21

理化性质 自乙醇中得获的片状结晶。溶于水（25℃ 3.38g/100mL水，75℃ 10.52g/100mL水）。

理化参数 熔点218～283℃（分解）。25℃ pK_1 2.28，pK_2 9.21。

制备方法[1]



（Ⅰ） （Ⅱ） （Ⅲ） （Ⅳ） （Ⅴ）

在冷却条件下混和100g丁内酯（Ⅰ）及13.6g红磷，加入190g溴，温度维持在20～30℃。加热混合物至70℃。在此温度继续加溴195g。80℃放置3小时，通入空气驱除过量的溴化氢。得产物α，γ-二溴丁酸-溴化氢约345g。80℃加水25mL，溴化氢迅速释放。产物二溴丁酸（Ⅱ）真空中加热到130～140℃，3小时后生成的α-溴-γ-内酯（Ⅲ）真空蒸馏加以纯化。200g（Ⅲ）溶于1200mL浓氢氧化铵溶液，20～30℃放置24小时。减压浓缩至约200mL，加水稀释至1L，，并以140g氢氧化钙处理。混合物再次减压蒸馏至小体积。浓缩液加水稀释，仔细地加入稀硫酸沉淀钙离子。过滤后，滤液减压蒸干。残液加乙醇搅拌直至出结晶。残渣是α-氨基-γ-丁内酯溴化氢盐（Ⅳ），约130～140g。乘乙醇尚存，结晶（Ⅳ）未干燥之时，冰冷下加入700mL 19℃氨饱和的三氯甲烷溶液，加入等体积无水乙醚使溴化铵沉淀。过滤，滤液在5℃通入干空气至干。浆状残渣在搅拌下加入40℃甲基硫醇钠* 的甲苯溶液（50g甲基硫醇钠溶于400mL甲苯）。反应液升温至60～70℃，渐渐变稠，不久即硬化。倾去溶剂，在油浴上160℃加热1小时，迅即液化成DL-甲硫氨酸钠盐。冷却，玻璃状残渣溶于70mL水，冰乙酸调至pH6，加乙醇至乙醇浓度为80%。冰冷几小时后，得50g结晶DL-甲硫氨酸（Ⅴ），在水-乙醇中重结晶。

* 甲基硫醇钠的制备 500mL无水甲醇溶解23g金属钠，氮气保护下加入58g甲基硫醇。氮气流保护下溶液浓缩至250mL，加入200mL甲苯，蒸发溶液并不时添加甲苯，直至溶液沸点和甲苯沸点接近。在这个过程中逐渐析出结晶甲基硫醇钠，在真空干燥器内保存。

贮存 室温。

参考文献

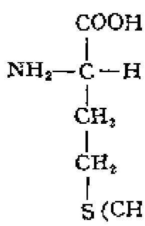
〔1〕 Plieninger, H.: *Chem. Ber.*, 83, 265(1950).

L-甲硫氨酸 Ⅱ-1(1)-0085

L-Methionine

别名 L-蛋氨酸；L-α-Amino-γ-methyl-thio-butyric acid

结构式



分子式 $C_5H_{11}NO_2S$ **分子量** 149.21

理化性质 片状六方结晶。溶于水；不溶于乙醚、乙醇。

理化参数 熔点281℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}-10°$（$C=2$，水），$+23.2°$（$C=0.5-2.0$，5 mol/L盐酸）。

制备方法[1] 149.2g DL-甲硫氨酸与1500mL冰乙酸与150mL乙酸酐反应得乙酰-DL-甲硫氨酸，具体步骤完全与DL-丙氨酸转化成乙酰-DL-丙氨酸相同（参阅L-丙氨酸〔Ⅱ-1(1)-0002)制备方法〕。将19.1g乙酰-DL-甲硫氨酸溶于1L水，用氢氧化铵调至pH7.0～7.2，加入3mg酰化酶Ⅰ，以后的操作完全相同于乙酰-DL-丙氨酸经酰化酶Ⅰ拆分成L-丙氨酸的步骤。得到约6g L-甲硫氨酸。

贮存 室温。

参 考 文 献

〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M. :"Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2149, (1961).

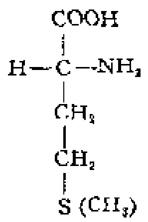
D-甲硫氨酸

Ⅱ-1(1)-0086

D-Methionine

别名 D-蛋氨酸；D-α-Amino-γ-methyl-thio-butyric acid

结构式



分子式 $C_5H_{11}NO_2S$ **分子量** 149.21

理化性质 结晶。溶于水。

理化参数 $[\alpha]_D^{25}+16°$（$C=2$，水），$-23.2°$（$C=0.5～2.0$，5mol/L盐酸）。

制备方法[1] D-甲硫氨酸的制备完全类似于D-丙氨酸（Ⅱ-1(1)-0003）的制备。自L-甲硫氨酸结晶后的母液得乙酰-D-甲硫氨酸，然后在酸中水解，得D-甲硫氨酸（参阅"D-甲硫氨酸"制备方法）。

贮存 室温。

参 考 文 献

〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M. :"Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2149, 1961.

DL-鸟氨酸

Ⅱ-1(1)-0087

DL-Ornithine

别名 DL-2,5-二氨基戊酸 DL-2,5-Diaminopentanoic acid；DL-α，δ-Diaminovaleric acid

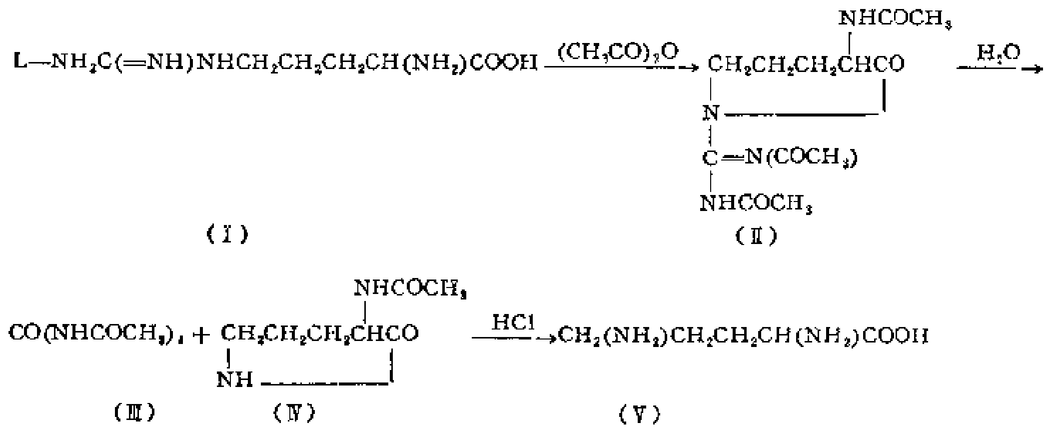
结构式　$CH_2(NH_2)—CH_2—CH_2—CH(NH_2)—COOH$

分子式　$C_5H_{12}N_2O_2$　　**分子量**　132.16

理化性质　难于结晶，通常是浆状物。DL-鸟氨酸的盐酸盐是白色粒状固体。溶于水。单盐酸盐溶于水、酸及碱；不溶于甲醇、乙醇、乙酸，双盐酸盐易溶于甲醇、乙醇。

理化参数　熔点 195℃，单盐酸盐 225～232℃（分解）。25℃ pK_1 1.71，pK_2 8.69，$pK_3$10.76。

制备方法[1]



2g L-精氨酸(Ⅰ)与40mL乙酸酐混合，迅速加热至沸点，澄明的液体减压浓缩至干。残渣为三乙酰脱氢-DL-精氨酸(Ⅱ)，将(Ⅱ)溶于乙酸酐加入无水乙醚沉淀进行重结晶。再将(Ⅱ)溶于冷水，放置24小时，减压浓缩至小体积，冰冷后二乙酰脲(Ⅲ)析出。过滤，滤液减压至干。残渣溶于三氯甲烷，过滤。滤液加入大量乙酸，析出DL-乙酰氨基哌啶酮(Ⅳ)沉淀。(Ⅳ)与20倍量的1mol/L盐酸溶液回流4小时，减压浓缩至干，残渣为DL-鸟氨酸盐双盐酸盐。

贮存　室温。

参 考 文 献

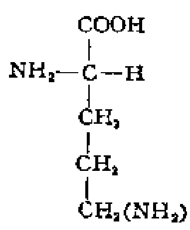
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2480, 1961.

L-鸟氨酸　　Ⅱ-1(1)-0088

L-Ornithine

别名　L-2,5-二氨基戊酸　L-2,5-Diaminopentanoic acid; L-α,δ-Diaminovaleric acid

结构式



分子式　$C_5H_{12}N_2O_2$　　**分子量**　132.16

理化性质 难于结晶，通常是浆状物。易溶于水、乙醇；微溶于乙醚。L-鸟氨酸单盐酸盐溶于水；不溶于甲醇、乙醇、乙醚。L-鸟氨酸双盐酸盐易溶于甲醇、乙醇。

理化参数 熔点226～227℃，单盐酸盐 230～232℃（分解），双盐酸盐 190～203℃。$[\alpha]_D^{25}$+28.4°（C=2.0，5mol/L盐酸），+12.1°（C=2.0，水），+16.5°（双盐酸盐，（C=4，水）。

制备方法[1] 21g L-精氨酸盐酸盐（Ⅰ）溶于1L水，加入173mg乙酸镁，纯的精氨酸酶制剂，38℃保温24小时。在此过程中不断以2mol/L氢氧化锂调节pH，维持在pH8。反应液以乙酸调至pH5，蒸汽浴上加热30分钟，加入活性炭助滤。滤液冷却，以5mol/L盐酸调至pH1.7，减压浓缩至干。浆状残渣溶于水，再次浓缩至干。这个步骤反复2次。最后将浆状残渣溶于约20mL水，以吡啶调至刚果红试纸呈碱性。将溶液加热至60℃，以活性炭脱色，过滤，滤液加入4倍体积的沸无水乙醇。冰冷几小时后，L-鸟氨酸单盐酸盐（Ⅱ）析出。过滤，以热乙醇洗涤，在少量热水中重结晶。（Ⅱ）溶于少量热水中，加入乙醇至出现结晶。

贮存 室温。

参 考 文 献

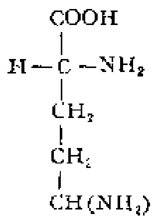
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M., "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2477, 1961.

D-鸟氨酸 Ⅱ-1(1)-0089

D-Ornithine

别名 D-2,5-二氨基戊酸 D-2,5-Diaminopentanoic acid; D-α,δ-Diaminovaleric acid

结构式



分子式 $C_5H_{12}N_2O_2$ **分子量** 132.16

理化性质 溶于水和酸。

理化参酸 熔点236～237℃（单盐酸盐），194～195℃（双盐酸盐）。$[\alpha]_D^{25}$-28.4°(C=2.0，5mol/L盐酸)，-12.1°（C=2.0，水）；-22.5°（单盐酸盐，C=5.5，6mol/L盐酸），-16.4（双盐酸盐，C=4，水），-18.2（双盐酸盐，5mol/L盐酸）。

制备方法[1] 168.5g DL-鸟氨酸单盐酸盐溶于500mL冰冷的4mol/L氢氧化钠，250g氯乙酰氯与550mL 4mol/L氢氧化钠交替分批加入。混合物以冷的浓盐酸酸化至刚果红试纸显蓝色，以乙酸乙酯萃取5次。合并萃取液，脱色，无水硫酸钠干燥后过滤，减压浓缩成厚浆。浆状残渣溶于少量乙酸乙酯，加入过量石油醚沉淀。-15℃放置数天后，出现α,δ-二氯乙酰-DL-鸟氨酸结晶，在丙酮-乙醚中重结晶。1L pH7.2的酶解混合物内含20.5g α,δ-二氯乙酰-DL-鸟氨酸，500mg酰化酶Ⅰ在38℃保温至50%水解。加酸沉淀蛋白质后浓缩，加入乙醇至乙醇浓度为80%，δ-氯乙酰-L-鸟氨酸沉淀。母液减压浓缩成浆，溶于水，通过Dowex 50(H^+)阳离子交换树脂柱，以水淋洗。合并流出液及淋洗液，减压浓缩至干。残

渣溶于2mol/L盐酸，回流2小时。减压浓缩至浆状，溶于少量水，过滤，加入过量乙醇沉淀，得D-鸟氨酸盐酸盐。

贮存 室温。

参 考 文 献

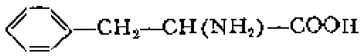
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M. :"Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2489, 1961.

DL-苯丙氨酸 Ⅱ-1(1)-0090

DL-Phenylalanine

别名 DL-α-Amino-β-phenyl-propionic acid; DL-α-Aminohydrocinnamic acid

结构式

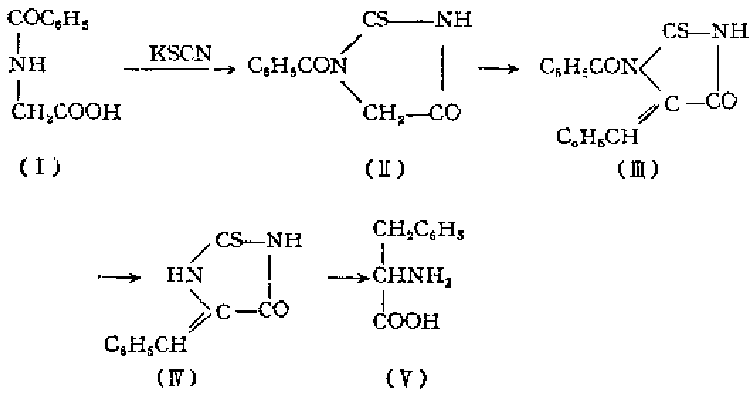


分子式 $C_9H_{11}NO_2$ **分子量** 165.19

理化性质 自乙醇中得小叶或棱柱体结晶。溶于水（25℃1.42g/100mL水，75℃3.71g/100mL水）；微溶于乙醇、乙醚。

理化参数 熔点271～273℃（分解）。25℃ p$K_1$2.16，p$K_2$9.18。光谱：$\lambda_{最大}$257.5nm，ε195（0.1mol/L盐酸），消光系数随pH变化不大。在λ_{240nm}与λ_{210nm}之间尚有数个小吸收峰。

制备方法[1]



2g马尿酸(Ⅰ)与2g硫氰化钾，9g乙酸酐和1mL冰乙酸共同加热，100℃，30分钟反应完全，放冷，倒于1L冷水中。产物2-硫-1-苯甲酰己内酰脲(Ⅱ)呈油状分出并立即硬化。滤出，用水洗涤，在乙醇中重结晶。4g(Ⅱ)，5.6g重蒸苯甲醛，8g乙酸钠溶于16mL冰乙酸，在油浴上回流3小时。冷却，加500mL水稀释，分出黄色固体(Ⅲ)为1-苯甲酰-2-硫-5-苄基己内酰脲。滤出，以水洗涤，溶于温热的稀氢氧化钠溶液中，冷却后得黄色结晶(Ⅲ)，在水中重结晶，再溶于热水，用浓盐酸调至pH3，蒸汽浴上蒸干，生成5-苄基硫代己内酰脲(Ⅳ)，在乙醇中重结晶。8.5g(Ⅳ)和10g锡悬浮在含水乙醇中，通入氯化氢气直至(Ⅳ)和锡溶解，溶液变得很热。室温下放置10小时，澄明的溶液减压浓缩至干。残渣溶于100mL水中，通硫化氢气至饱和。过滤，滤液减压浓缩至干。残渣溶于少量水中，加入过量苯胺，再加乙醇至乙醇浓度为80%。放冷，DL-苯丙氨酸(Ⅴ)析出，在1:2水-乙醇溶液中重结晶。

贮存 室温。

参 考 文 献

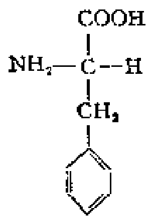
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M. :"Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc 2169, 1961.

L-苯丙氨酸 Ⅱ-1(1)-0091

L-Phenylalanine

别名 L-α-Amino-β-phenyl-propionic acid; L-α-Aminohydrocinnamic acid

结构式



分子式 $C_9H_{11}NO_2$ **分子量** 165.19

理化性质 自水、乙醇或苯中得针状结晶。溶于水（25℃ 2.96g/100mL 水，75℃6.624g/100mL 水）；不溶于乙醇、乙醚。在碱性不稳定，5mol/L 氢氧化钠溶液中，110～115℃，5小时破坏75%。

理化参数 熔点283～284℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}$ −4.47°（C=1～2，5mol/L盐酸），−34.5°（C=1～2，水）。

制备方法[1] 自血红蛋白水解液分离L-白氨酸后的母液〔参阅L-白氨酸（Ⅱ-1(1)-0076)制备方法〕加入300g2:5-二溴苯磺酸，0℃放置数小时。结晶的2,5-二溴苯磺酸苯丙氨酸盐滤出后空气干燥，约300g。在乙二醇甲醚-水(1:9)的热溶液中重结晶。产量约200g，母液浓缩后，可再回收50g。225g重结晶的产物混和250mL水和50mL吡啶，加热使溶。加入600mL无水乙醇，冰冷之。析出55g L-苯丙氨酸，在260mL水，40mL浓氨水及600mL乙醇中重结晶，产量约35g。

贮存 室温。

参 考 文 献

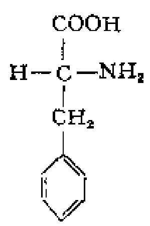
〔1〕 Stein, W. H., Moore, S., Stamm, G., Chou, C. Y. and Bergmann, M. : *J. Biol. Chem*, 143, 121(1942).

D-苯丙氨酸 Ⅱ-1(1)-0092

D-Phenylalanine

别名 D-α-Amino-β-phenyl-propionic acid; D-α-Aminohydrocinnamic acid

结构式



分子式 $C_9H_{11}NO_2$ **分子量** 165.19

理化性质 自水中得小叶状结晶。溶于水（25℃3g/100mL水）；微溶于热乙醇；不溶于乙醚、丙酮。

理化参数 熔点283～284℃（分解）。$[\alpha]^{25}_{D}+4.47°$（$C=1$～2，5mol/L 盐酸），$+34.5°$（$C=1$～2，水）。

制备方法[1] 165.1 gDL-苯丙氨酸部分溶解，部分悬浮于2mol/L 氢氧化钠中，混合物冷至5℃。搅拌与冷却下，交替滴加135.5g氯乙酰氯和600mL冰冷2mol/L氢氧化钠，过程中反应液pH维持在 9 左右。约 2 小时加毕，加浓盐酸至刚果红试纸呈蓝色。出现的黄白色油状物以乙酸乙酯萃取 2 次。合并萃取液，无水硫酸钠干燥，过滤。滤液以干净空气吹去溶剂。油状残液与石油醚一齐研磨，迅即成为结晶固体。放置24小时后，在水中重结晶，可用极少量活性炭脱色。24.2g上述结晶（氯乙酰-DL-苯丙氨酸））悬浮于800mL水，以2mol/L氢氧化锂调至pH7.0～7.2，用水稀释至1L。加入约150mg 猪肾酰化酶 I，38℃保温至水解完全。混合物pH调至 5，过滤，滤液减压浓缩至50～100mL，L-苯丙氨酸开始结晶。整个混合物冰冷几小时，滤去结晶，滤液酸化至pH1.7，分出氯乙酰-D-苯丙氨酸，加入2mol/L盐酸回流，减压浓缩，残液（D-苯丙氨酸）在水中重结晶。

贮存 室温。

参 考 文 献

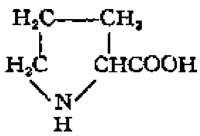
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.："Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2173, 1961.

DL-脯氨酸 Ⅱ-1(1)-0093

DL-Proline

别名 DL-吡咯啉；DL-氢化吡咯甲酸；DL-Pyrrolidine-2-carboxylic acid

结构式



分子式 $C_5H_9NO_2$ **分子量** 115.13

理化性质 吸潮性棱柱形结晶。溶于水、乙醇；微溶于三氯甲烷、丙酮。

理化参数 熔点213℃。25℃p$K_1$1.95，p$K_2$10.64。

制备方法[1] 115.1g L-脯氨酸溶于1500mL冰乙酸中，加热煮沸，取下放置 1分钟后，仔细地加入250mL乙酸酐，再度煮沸。冷至室温，减压蒸去溶剂。残液加水蒸干，计 2 次。最后乙酰-DL-脯氨酸残渣干燥后在丙酮中重结晶。加入十倍量的2mol/L盐酸，回流2 小时，减压浓缩至干。残液是DL-脯氨酸盐酸盐，在无水乙醇中重结晶 2 次。

贮存 室温。

参 考 文 献

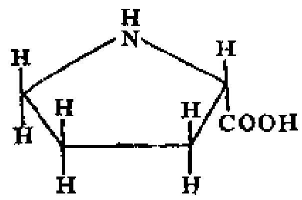
〔1〕 Price, V. E., Levintow, L., Greenstein, J. P. and Kingsley, R. B.：*Arch. Biochem.*, 26, 92 (1950).

L-脯氨酸 Ⅱ-1(1)-0094

L-Proline

别名 L-嗜咻；L-氢化吡咯甲酸；L-Pyrrolidine-2-carboxylic acid

结构式



分子式 $C_5H_9NO_2$ **分子量** 115.13

理化性质 自水中得棱柱形结晶，自乙醇中得针状结晶。溶于水（25℃ 162.3g/100mL水，65℃ 239g/100mL水）、乙醇（19℃1.18g/100mL 乙醇）；不溶于乙醚、正丙醇、正丁醇。

理化参数 熔点220～222℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}-60.4°$（$C=1$～2，5mol/L盐酸），$-86.2°$（$C=1$～2，水）。

制备方法[1] 500g明胶经盐酸水解，最后浓缩成1L水解液〔参阅L-精氨酸（Ⅱ-1（1)-0018）制备方法〕。在 80℃搅拌下加入热的 2,4-二硝基-1-萘酚-7-磺酸溶液（150g/700 mL水），加热至沸，以沸水稀释至4L。然后，冷却至室温，析出精氨酸的2,4-二硝基-1-萘酚-7-磺酸盐结晶。过滤，滤液以氢氧化钡去除残余的2,4-二硝基-1-萘酚-7-磺酸，体积约 4.5 L。加入含 450g 硫氰酸铵的 3L甲醇溶液。5℃放置几小时后，L-脯氨酸硫氰酸盐沉淀，过滤，以冷水洗涤滤渣，在0.5mol/L氯化氢的甲醇溶液中重结晶。每40g重结晶的盐悬浮于水中，加入10mL吡啶振荡。硫氰酸的吡啶盐不溶于此溶液，而L-脯氨酸溶解。过滤，以水洗滤渣。合并滤液与洗涤液，加入乙酸，又有少量沉淀产生。过滤，滤液减压浓缩至干。反复加入乙醇后蒸干。残渣溶于热的无水乙醇，过滤，滤液冷却，加入等量无水乙醚。沉淀出的L-脯氨酸粗品滤出后干燥。119g L-脯氨酸粗品溶于热的无水乙醇，以含有229g 苦味酸的冰乙酸溶液处理。冰冷后析出L-脯氨酸苦味酸盐结晶。滤出，在热水中重结晶。将L-脯氨酸苦味酸盐悬浮于10倍量的水中，加入5倍量的重蒸苯胺。分出苯胺层，水层再次用苯胺萃取。合并苯胺层，以水萃取一次。水萃取液与上述水层合并，以乙醚萃取。水层与活性炭共热（小心!）。过滤，澄明的滤液减压浓缩至干。残渣溶于热的无水乙醇，过滤，滤液冰冷后得纯的L-脯氨酸结晶。

贮存 室温。

参 考 文 献

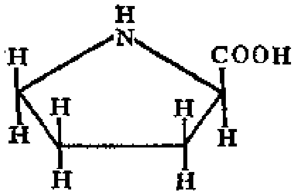
〔1〕 Bergmann, M.: *J. Biol. Chem.*, 110, 471(1935).

D-脯氨酸 Ⅱ-1(1)-0095

D-Proline

别名 D-嗜咻；D-氢化吡咯甲酸；D-Pyrrolidine-2-carboxylic acid

结构式



分子式 $C_5H_9NO_2$ **分子量** 115.13

理化性质 吸潮的棱柱形结晶。溶于水，乙醇。

理化参数 熔点206℃，$[\alpha]_D^{25}+60.4°$（$C=1\sim2$，5mol/L盐酸）$+86.2°$（$C=1\sim2$，水）

制备方法[1] DL-脯氨酸盐酸盐溶于1L无水乙醇，通入氯化氢气至饱和。混合物减压浓缩成厚浆。再溶于乙醇，重复通入氯化氢气后减压蒸发。残渣溶于少量冰水，取等量乙醚覆盖其上。滴加冰冷的5mol/L氢氧化钠至碱性。固体无水碳酸钾投入其中，不断振荡并冷却直至成泥状。以乙醚萃取10次，合并萃取液，无水硫酸钠干燥1小时后过滤。滤液先室温减压蒸去乙醚，再升温将DL-脯氨酸酯蒸出（50～70℃，133Pa）。将酯溶于5℃氨气饱和的1L冷的无水甲醇溶液中，继续在冰冷条件下通氨直至饱和。容器加盖后，在25℃放置一星期，减压蒸去溶剂。结晶残渣DL-脯氨酸酸胺在无水三氯甲烷中重结晶。再将11.4g DL-脯氨酸酰胺溶于800mL水（内含245mg乙酸锰），以2mol/L盐酸调至pH8.0，以水稀释至1L。猪肾酰胺酶1g加入后，在38℃保温24小时。补加100mg酶后再保温12小时。抽气过滤，滤液加乙酸调至pH5，加入活性炭，过滤，滤液30℃减压浓缩至干。残渣以5%氯化氢的无水乙醇-丙酮（4∶1）溶液萃取3次。合并萃取液，加入少量水，减压浓缩至干。残渣溶于水，以略为过量的水洗过的碳酸银分批处理。抽气过滤，以少量水洗滤渣，合并滤液及洗涤液，通入硫化氢，加入少量活性炭助滤，滤液减压浓缩至约100mL。此溶液只含L-脯氨酸和D-脯氨酰胺，将其倒入Amberlite XE-64(H^+)阳离子交换树脂柱。酰胺吸于柱上而酸流过。以几百毫升水洗柱后，D-脯氨酰胺为0.12mol/L盐酸洗脱。合并所有茚三酮阳性反应的级分，减压浓缩至约100mL，加入20mL 10mol/L盐酸，加热回流2小时。减压浓缩至干，残渣多次加水后减压蒸干。最后残渣溶于50mL水，加入稍为过量的水洗过的碳酸银。过滤，滤液通入硫化氢气，加入活性炭助滤。滤液减压蒸干，残渣在少量无水乙醇中重结晶，得纯的D-脯氨酸。

贮存 室温。

参考文献

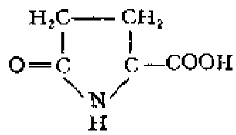
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2195, 1961.

DL-焦谷氨酸 Ⅱ-1(1)-0096

DL-Pyroglutamic acid

别名 DL-2-吡咯酮-5-羧酸 DL-2-Pyrrolidone-5-carboxylic acid; 5-Oxoproline

结构式



分子式 $C_5H_7NO_3$ **分子量** 129.13

理化性质 无色结晶。溶于水。

理化参数 熔点178～183℃。25℃ pK3.32

制备方法 以DL-谷氨酸甲酯为起始材料按照L-谷氨酸甲酯制取L-焦谷氨酸同样的方法制取DL-焦谷氨酸。

贮存 室温。

DL-丝氨酸 Ⅱ-1(1)-0097

DL-Serine

别名 DL-β-羟丙氨酸 DL-β-Hydroxyalanine; DL-α-Amino-β-hydroxypropionic acid

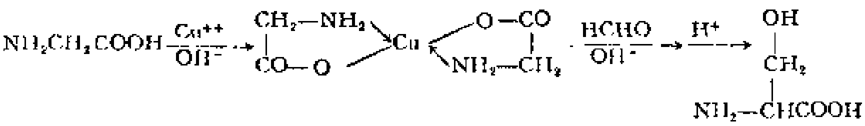
结构式 $CH_2(OH)CH(NH_2)COOH$

分子式 $C_3H_7NO_3$ **分子量** 105.09

理化性质 自水中得单斜棱柱形结晶。溶于水（25℃ 5.0g/100mL水，75℃19.21g/100mL水）；微溶于乙醇；不溶于乙醚。

理化参数 熔点246℃（分解）。25℃ p$K_1$2.19，p$K_2$9.21。

制备方法[1]



(Ⅰ) (Ⅱ) (Ⅲ)

5.3g甘氨酸(Ⅰ)溶于300mL 1mol/L碳酸钠溶液中，加入3.6mL，0.2mol/L硫酸铜及48mL甲醛溶液（36～38%W/W），以水稀释至1500mL。95～98℃反应1小时。反应混合物冷却至室温，过滤。滤液以乙酸酸化至pH6.0，减压浓缩至约300mL。倒入强阳离子交换树脂Dowex 50(H⁺)柱（3.5×50cm），用500mL水淋洗后，以2mol/L氢氧化钠洗脱，收集所有含茚三酮阳性反应的级分，浓缩至约50mL，加入6～8容积的无水乙醇。分出结晶，用冷乙醇洗涤后，溶于175mL热水（如无结晶析出，先将乙醇蒸去，加入15mL水，再浓缩至干，如此三次，最后残渣溶于175mL水）。冷却溶液，再通过Dowex 50(H⁺)阳离子交换树脂柱（2.5×35cm）。用100mL水洗柱后，用1mol/L盐酸洗脱，茚三酮检测，有二个级分有茚三酮反应，第二级分（第100～650mL酸洗脱液）是DL-丝氨酸，浓缩成厚浆。加水10mL蒸干，如此共进行4次。最后残渣以1mol/L氢氧化锂调至pH6.0，加入几倍容积的乙醇，冷室放置过夜，析出的结晶DL-丝氨酸用冷乙醇洗涤，在水-乙醇中重结晶。

贮存 室温。

参 考 文 献

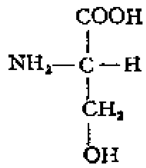
〔1〕 Akabori, S., Otani, T. T., Marshall, R., Winitz, M. and Greenstein, J. P.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 83, 1 (1959).

L-丝氨酸　　Ⅳ-1(1)-0098

L-Serine

别名　L-β-羟丙氨酸　L-β-Hydroxyalanine；L-α-Amino-β-hydroxypropionic acid

结构式



分子式　$C_3H_7NO_3$　　**分子量**　105.19

理化性质　六面形片状结晶或棱柱形晶体。溶于水（20℃ 25g/100mL水）。

理化参数　熔点223～228℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}+15.1°$（$C=2$，5mol/L盐酸），$-7.5°$（$C=2$，水）。在pH9水溶液中消旋。

制备方法[1]　105.1g DL-丝氨酸溶于500mL 2mol/L氢氧化钠，冷至5℃，交替滴加135.5g氯乙酰氯和600mL冷的2mol/L氢氧化钠，始终维持溶液pH为碱性。加完后，溶液以2.5mol/L硫酸调至刚果红试纸呈蓝色，减压蒸干（35℃）。残渣用热乙酸乙酯萃取5次。合并萃取液，加入少量活性炭，加热后过滤。滤液以干空气吹去溶剂，残渣为近乎无色的油状物，溶于约50mL无水乙酸乙酯，滴加石油醚至出现混油。5℃放置20小时，析出氯乙酰-DL-丝氨酸结晶。18.2g氯乙酰-DL-丝氨酸溶于800mL水，浓氨水调至pH7.0～7.2。加水稀释至1L，搅拌下加入20mg酰化酶Ⅰ，38℃保温24小时。其间随时测定反应液的pH，滴加氢氧化铵维持反应液pH在7.0～7.2。以后的操作完全相同于由乙酰-DL-丙氨酸拆分制备L-丙氨酸〔参阅L-丙氨酸（Ⅳ-1(1)-0002)制备方法〕，得纯的L-丝氨酸约4.5g。

贮存　室温。

参考文献

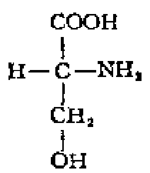
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.："Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2230, 1961.

D-丝氨酸　　Ⅳ-1(1)-0099

D-Serine

别名　D-β-羟丙氨酸　D-β-Hydroxyalanine；D-α-Amino-β-hydroxypropionic acid

结构式



分子式　$C_3H_7NO_3$　　**分子量**　105.09

理化性质　六面形片状结晶。溶于水；不溶于乙醇、乙醚。

理化参数　熔点228℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}-15.1°$（$C=2$，5mol/L盐酸），$+7.2°$（$C=2$，水）。

制备方法[1] D-丝氨酸的制备方法完全同于D-丙氨酸(Ⅱ-1(1)-0003) 制备方法。从分离L-丝氨酸得到的浆状残渣，溶于少量乙酸乙酯，冷至-15℃，析出氯乙酰-D-丝氨酸结晶，抽气过滤后，空气干燥。在2mol/L盐酸中加热回流后得3～4g D-丝氨酸纯品。

贮存 室温。

参 考 文 献

〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M. :"Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2232, 1961.

牛 磺 酸 Ⅱ-1(1)-0100

Taurine

别名 牛胆碱；2-氨基乙磺酸 2-Aminoethane sulfonic acid

结构式 $CH_2(NH_2)—CH_2—SO_3H$

分子式 $C_2H_7NO_3S$ **分子量** 125.15

理化性质 四方针状结晶。溶于水（0℃3.93g/100mL 水，25℃ 10.48g/100mL 水，100℃ 45.76g/100mL水)；微溶于乙醇，不溶于乙醚。

理化参数 熔点320℃（分解)。25℃ pK_1 -0.3，pK_2 9.06。

制备方法[1]

$$\underset{(\text{I})}{BrCH_2CH_2SO_3Na} + NH_3 \longrightarrow \underset{(\text{II})}{NH_2CH_2CH_2SO_3H} + NaBr$$

110g 2-溴乙烷磺酸钠（Ⅰ）溶于约2L浓氨水（相对密度0.9)，放置5～7天后蒸干。最后的一点残余水分在蒸汽浴上进行。残渣溶于少量热水（约500mL)，必要时加5g活性炭处理。浓缩至65～70mL，加入250mL 95%乙醇，待结晶完全后，收集结晶溶于100mL热水，加500mL95%乙醇。重结晶后的牛磺酸（Ⅱ）约31～36g。

贮存 室温。

参 考 文 献

〔1〕 Marrel, C. S. and Bailey, C. F. :"Organic Syntheses", 10, 98, 1930.

DL-苏氨酸 Ⅱ-1(1)-0101

DL-Threonine

别名 DL-α-Amino-β-hydroxy-n-butyric acid

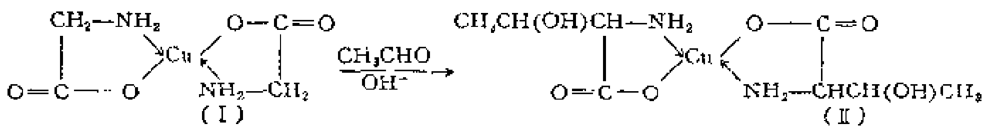
结构式 $CH_3—CH(OH)—CH(NH_2)—COOH$

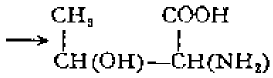
分子式 $C_4H_9NO_3$ **分子量** 119.12

理化性质 含半分子结晶水的斜方形结晶。溶于水(25℃ 20g/100mL 水，80℃～55g/100mL水)；微溶于乙醇，不溶于三氯甲烷。

理化参数 熔点235℃（分解，含半分子水结晶)。25℃ pK_1 2.09，p$K_2$9.10。

制备方法[1]





（Ⅲ）

热甘氨酸水溶液加入过量的碳酸铜。滤去过量的不溶解的碳酸铜，滤液减压浓缩至小体积，冷却，析出甘氨酸铜（Ⅰ）结晶。将115g（Ⅰ）充分研细，与30g无水碳酸钠，370mL水和160mL新蒸乙醛在50℃搅拌1小时，冷却，蒸去过量的乙醛。加入1L水及700mL浓氨水，过滤。滤液通过由5mol/L氢氧化铵处理过的Dowex 50阳离子交换树脂柱。流出液减压浓缩，活性炭脱色后，进一步减压浓缩至析出结晶（Ⅱ）。加入4容积甲醇，冷却数小时后，得产物（Ⅱ），滤出，用甲醇洗涤。（Ⅱ）是DL-苏氨酸和DL-别苏氨酸的混合物。将15.6g（Ⅱ）与热乙醇溶液（3.02g钠与60.4g无水乙醇配制）混和，回流5分钟（保证全部溶解）。很快DL-苏氨酸的钠盐析出。室温放置16小时，滤出钠盐，50～55℃干燥。母液留作制备DL-别苏氨酸用。15g DL-苏氨酸钠盐溶于18.5mL冰冷浓盐酸，搅拌下加入120mL异丙醇，混合物加热至60℃，待反应完全后，置冰箱中12小时。过滤，滤液以204mL苯胺处理。5℃放置16小时。所得DL-苏氨酸粗品溶于28.8mL热水，加86mL热乙醇，置冰箱内12小时，得纯的DL-苏氨酸。

贮存 室温。

参 考 文 献

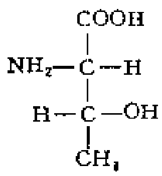
〔1〕 Marvel, C. S. and Bailey, C. F.："Organic. Syntheses" 10, 98, 1930.

L-苏氨酸 Ⅱ-1(1)-0102

L-Threonine

别名 L-*α*-Amino-*β*-hydroxy-*n*-butyric acid

结构式



分子式 $C_4H_9NO_3$ **分子量** 119.12

理化性质 斜方形结晶（含半分子结晶水）。溶于水，不溶于乙醇、乙醚、三氯甲烷。

理化参数 熔点253℃（分解）。$[\alpha]_D^{26}$ -15.0°（C=1～2，5mol/L盐酸），-28.5°（C=1～2，水）。

制备方法[1] 119.1g DL-苏氨酸溶于500mL冰冷的2mol/L氢氧化钠，交替加入135.5g氯乙酰氯和600mL 2mol/L氢氧化钠，反应液必须始终保持在碱性。反应终了后以2.5mol/L硫酸酸化反应液至刚果红呈蓝色。减压浓缩至干，残渣以丙酮萃取数次。合并丙酮萃取液，以干空气吹去溶剂。残渣溶于丙酮，加入无水乙醚研磨结晶。结晶的氯乙酰-DL-苏氨酸拆分制取L-苏氨酸。方法与乙酰-DL-丙氨酸拆分制取L-丙氨酸相同。不过19.55g氯乙酰-DL-苏氨酸，需要80mg酰化酶Ⅰ拆分〔参阅L-丙氨酸（Ⅱ-1(1)-0002）制备方法〕。

贮存 室温。

参 考 文 献

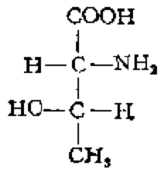
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.:"Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2250, 1961.

D-苏氨酸 Ⅱ-1(1)-0103

D-Threonine

别名 D-α-Amino-β-hydroxy-n-butyric acid

结构式



分子式 $C_4H_9NO_3$ **分子式** 119.12

理化性质 结晶。溶于水；不溶于三氯甲烷和乙醚。

理化参数 熔点251～252℃（分解）。$[\alpha]^{25}_{D}+15.0°$(C=1～2，5mol/L盐酸)，+28.5°(C=1～2，水)。

制备方法[1] 自氯乙酰-DL-苏氨酸拆分制取L-苏氨酸后的母液，制取D-苏氨酸，方法完全相同与D-丙氨酸（Ⅱ-1(1)-0003）制取方法。

贮存 室温。

参 考 文 献

〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2251, 1961.

DL-别苏氨酸 Ⅱ-1(1)-0104

DL-*allo*-Threonine

结构式 $CH_3CH(OH)CH(NH_2)COOH$

分子式 $C_4H_9NO_3$ **分子量** 119.12

理化性质 白色结晶。溶于水（25℃13.9g/100mL水，80℃约31.0g/100mL水）；微溶于乙醇。

理化参数 熔点244～245℃。25℃$pK_1$2.11，$pK_2$9.10。

制备方法[1] DL-苏氨酸与DL-别苏氨酸混合物（Ⅱ）除去大部分DL-苏氨酸钠盐后的母液〔参阅DL-苏氨酸（Ⅱ-1(1)-0101）制备方法〕减压浓缩至干。残渣仍为DL-别苏氨酸与DL-苏氨酸混合物，但DL-苏氨酸含量明显减少（<20%）。残渣在15%乙醇中重结晶2次得纯的DL-别苏氨酸。

贮存 室温。

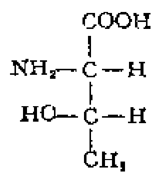
参 考 文 献

〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2256, 1961.

L-别苏氨酸 Ⅱ-1(1)-0105

L-*allo*-Threonine

结构式



分子式 $C_4H_9NO_3$ **分子量** 119.12

理化性质 白色结晶。溶于水；微溶于乙醇。

理化参数 $[\alpha]_D^{25}$ +10.0°(*C*=1～2，水)，+31.7°(*C*=1～2，5mol/L盐酸)

制备方法[1] 119.1g DL-别苏氨酸溶于500 mL冰冷的2 mol/L氢氧化钠，以135.5g氯乙酰氯与600mL2mol/L氢氧化钠交替加入将DL-别苏氨酸氯乙酰化，操作过程完全和制取氯乙酰-DL-苏氨酸相同，参阅L-苏氨酸(Ⅱ-1(1)-0102)的制备方法。氯乙酰-DL-别苏氨酸经酰化酶拆分制取L-别苏氨酸也和氯乙酰-DL-苏氨酸拆分制取L-苏氨酸完全相同，只是19.55g氯乙酰-DL-别苏氨酸只需要酰化酶I 20mg。

贮存 室温。

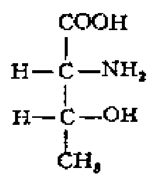
参 考 文 献

〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.："Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc 2251, 1961.

D-别苏氨酸 Ⅱ-1(1)-0106

D-allo-Threonine

结构式



分子式 $C_4H_9NO_3$ **分子量** 119.12

理化性质 白色结晶。溶于水；微溶于乙醇。

理化参数 $[\alpha]_D^{25}$ −10.0°(*C*=1～2，水)，−31.7°(*C*=1～2，5mol/L盐酸)。

制备方法[1] 自氯乙酰-DL-别苏氨酸制取L-别苏氨酸后的母液〔参阅"L-别苏氨酸"制备方法〕，按照制取D-丙氨酸(Ⅱ-1(1)-00的相同方法制取D-别苏氨酸。

贮存 室温。

参 考 文 献

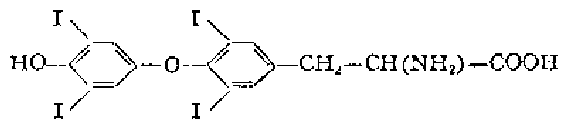
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.："Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2251, 1961.

DL-甲状腺素 Ⅱ-1(1)-0107

DL-Thyroxine

别名 DL-3,5,3′,5′-Tetraiodothyronine

结构式



分子式 $C_{15}H_{11}I_4NO_4$ **分子量** 776.87

理化性质 白色结晶。光照下不稳定，失碘。稀溶液时玻璃有强烈吸附作用，与Mg^{++}，Mn^{++}和其他两价离子螯合生成不溶物。

理化参数 熔点231～233℃（分解）。25℃ pK_1 2.2，pK_2 6.45，pK_3 10.1。光谱性质：酸性溶液(0.04mol/L盐酸)$\lambda_{最大}$295nm，ϵ4160；碱性溶液：$\lambda_{最大}$227nm，ϵ48560；$\lambda_{最大}$325nm，ϵ6210。

制备方法[1] 100g脱脂酪蛋白与4L水，30g碳酸氢钠在37℃一起搅拌。此溶液pH应为8.5。20g磨细的碘，分小批隔一定时间投入，需时约4小时。酸化溶液，碘代酪蛋白沉淀。悬浮于水中，加入氢氧化钠溶液至沉淀刚好溶解，溶解后的溶液对水透析。透析液倒入乙酸-乙醇混合液（1∶1）中，滤出沉淀，以乙醇洗涤后真空干燥。100g上述碘代酪蛋白与含有320g氢氧化钡的水溶液回流20小时。水解结束，滤出沉淀（A）与滤液（B）。沉淀（A）与少量稀盐酸摩擦至刚果红呈弱的蓝色，离心，沉淀再一次与稀乙酸摩擦。滤液(B)冰冷后，析出氢氧化钡结晶，滤去之。母液与离心上清液合并，盐酸酸化至pH 4.5～5.0。离心，沉淀以稀乙酸洗涤。合并沉淀与沉淀（A）以0.1mol/L氢氧化钠溶液(含有硫酸钠)处理。沉淀以0.1mol/L氢氧化钠溶液（含有硫酸钠）再处理几次。合并处理液，离心，上清液热至90℃以稀硫酸酸化至pH4.5～5.0。滤出生成的沉淀为DL-甲状腺素的粗品，以稀乙酸洗涤后干燥。产量约2.1g。溶解于最小量热的碳酸氢钠溶液，冷至0℃，出现的白色沉淀是DL-甲状腺素的钠盐。将钠盐溶于70%碱-乙醇溶液，过滤，滤液煮沸，以乙酸酸化。析出纯的DL-甲状腺素结晶，产量50～100mg。

贮存 低温（<0℃）。

参 考 文 献

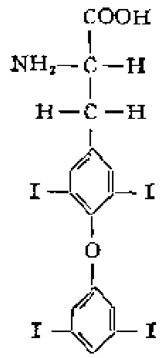
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2275, 1961.

L-甲状腺素 Ⅱ-1(1)-0108

L-Thyroxine

别名 L-3,5,3′,5′-Tetraiodothyronine

结构式



分子式 $C_{15}H_{11}I_4NO_4$ **分子量** 776.87

理化性质 白色针状结晶。溶于碱；不溶于水、乙醇、乙醚。见光不稳定，失碘。蛋白质水解时，特别是醚水解，失碘。在稀溶液中玻璃有强烈吸附作用。与二价离子螯合成不溶物。

理化参数 熔点236℃（分解）。$[\alpha]_D -4.5\sim-5.7°$（1mol/L氢氧化钠-乙醇1:2），$+15°$（$C=5$，1mol/L盐酸-95%乙醇1:2）。光谱：0.04mol/L盐酸中$\lambda_{最大}$295nm，ϵ 4160；稀氢氧化钠溶液中$\lambda_{最大}$227nm，ϵ48560；$\lambda_{最大}$325nmϵ6210。

制备方法[1] 10g纯3,5-二碘-L-酪氨酸溶于100mL 2mol/L氢氧化钠中，冷却，剧烈搅拌下慢慢加入11.0mL乙酸酐。25℃放置2小时，直至与亚硝酸不呈显色反应。以35mL 6mol/L盐酸酸化，*N*,*O*-二乙酰化合物成无定形固体析出，吸滤固体后溶于约100mL热乙醇，以活性炭处理。过滤，滤液滴加热水（内含几毫升盐酸）至液体开始混浊。*N*,*O*-二乙酰-3,5-二碘-L-酪氨酸结晶析出。将23.85g *N*,*O*-二乙酰-3,5-二碘-L-酪氨酸溶于150mL冷1mol/L氢氧化钠中，室温放置10分钟。过滤，滤液加水稀释至600mL，热至75℃，剧烈搅拌下加170mL1mol/L盐酸，*N*-乙酰-3,5-二碘-L-酪氨酸（Ⅱ）立即析出，冷却几小时后，收集结晶，用水洗涤后干燥。（Ⅱ）在热乙醇-热水中重结晶。将9.5g（Ⅱ）溶于100mL 0.05mol/L硼酸缓冲液中，pH7.6和17.8mL 2mol/L氢氧化钠混合物。37℃放置2天后，开始有结晶析出，12天后，离心收集结晶*N*-乙酰-L-甲状腺素钠盐，用少量冷水洗涤结晶。结晶在冷的稀盐酸中搅拌几次，每次上清液弃去。最后结晶用少量水洗涤，结晶为*N*-乙酰-L-甲状腺素（Ⅲ），干重约290mg。（Ⅲ）溶于热的浓乙酸中，倒入大量沸水中重结晶。冷却至室温，放置2小时后，滤出*N*-乙酰-L-甲状腺素，用水洗涤。将1.64g（Ⅲ）在25mL乙酸与15mL浓盐酸混合物中回流1小时，溶液减压浓缩至干。残渣加沸0.05mol/L碳酸钠至刚好全溶，快速趁热过滤，滤液冷却几小时后，离心收集L-甲状腺素钠盐（Ⅳ），少量冷水洗涤，溶于沸80%乙醇。趁热快速过滤，滤液加入乙酸，析出纯L-甲状腺素结晶，产量1.25g。

贮存 低温（<0℃）避光（L-甲状腺素和L-甲状腺素钠盐$5H_2O$)贮存。

参考文献

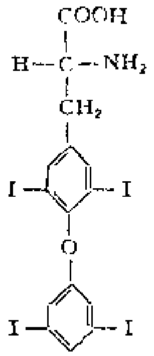
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2281, 1961.

D-甲状腺素 Ⅲ-1(1)-0109

D-Thyroxine

别名 D-3,5,3′,5′-Tetraiodothyronine

结构式



分子式 $C_{15}H_{11}I_4NO_4$　　分子量 776.87

理化性质 结晶。

理化参数 $[\alpha]_D^{26}$ +5.15°(1:2 1mol/L氢氧化钠-乙醇)。

制备方法[1] D-甲状腺素的制取完全和制取L-甲状腺素的方法相同，只是以3,5-二碘-D-酪氨酸作为开始的原材料[参阅L-甲状腺素（Ⅱ-1(1)-0108）制备方法]。

贮存 低温（<0℃）避光。

参考文献

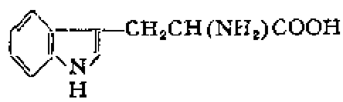
〔1〕Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2279, 1961.

DL-色氨酸　　Ⅱ-1(1)-0110

DL-Tryptophan

别名 DL-α-Amino-3-indole-propionic acid

结构式

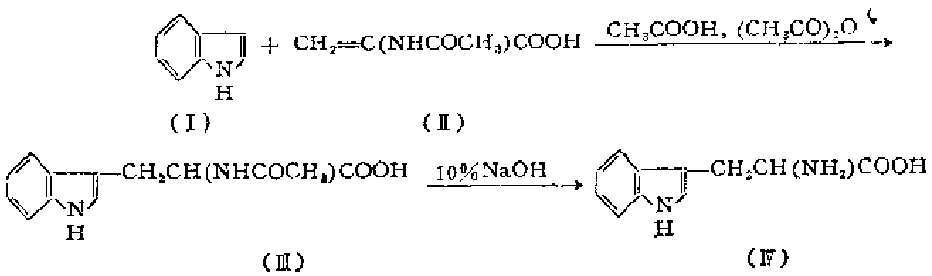


分子式 $C_{11}H_{12}N_2O_2$　　分子量 204.23

理化性质 无色六方形片状结晶。溶于水（30℃0.25g/100mL水）；微溶于乙醇。

理化参数 熔点283～285℃。25℃ pK_1 2.43，pK_2 9.44。吸收光谱：0.1mol/L盐酸中 $\lambda_{最大}$218nm ε33500；$\lambda_{最大}$278nm ε5550；$\lambda_{最大}$287.5nm ε4550；乙醇溶液中 $\lambda_{最大}$221nm ε3720，$\lambda_{最大}$282.0nm ε6.70。

制备方法[1]



1.17 g 吲哚（Ⅰ），3.9 gα-乙酰氨基丙烯酸（Ⅱ），6mL冰乙酸及2mL乙酸酐混合，95～96℃搅拌45分钟。反应物以冰冷却，用乙酸稀释，加30%氢氧化钠至呈碱性。振荡后分出乙醚层。乙醚层再一次用新配稀氢氧化钠溶液萃取2～3次。合并氢氧化钠溶液，加入几粒亚硫酸氢钠。冷至5℃，以浓盐酸调至中性，减压浓缩至约 50mL。再用浓盐酸调至 pH3，5℃放置数小时。过滤，析出乙酰-DL-色氨酸（Ⅲ）结晶，在乙醇-水中重结晶。将（Ⅲ）在10%氢氧化钠溶液中回流 2 小时。冷却，冰乙酸酸化至pH5减压浓缩，得DL-色氨酸结晶(Ⅳ)。

贮存 室温避光。

参 考 文 献

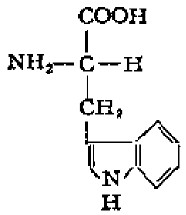
〔1〕 Snyder, H. R. and MacDonald, J. A.: *J. Am. Chem. Soc.*, 77, 1257(1955).

L-色氨酸　　Ⅱ-1(1)-0111

L-Tryptophan

别名 L-α-Amino-3-indole-propionic acid

结构式



分子式 $C_{11}H_{12}N_2O_2$　　**分子量** 204.23

理化性质 无色六方形小叶状结晶。溶于水（25℃ 1.14 g/100 mL 水，75℃ 2.80 g/100 mL 水）、热吡啶；微溶于乙醇；不溶于三氯甲烷、乙醚。

理化参数 熔点 281～2℃。$[\alpha]_D^{25}$ +2.8°（C=1-2，1mol/L 盐酸），-33.7°（C=1～2，水）。

制备方法[1] 204.2 g DL-色氨酸溶于 500 mL 2 mol/L 氢氧化钠中，冷至 0℃。剧烈搅拌并冷却下交替分十批加入265 g 氯乙酸酐和600mL2mol/L氢氧化钠。约 2 小时加完，用3mol/L硫酸酸化至刚果红试纸呈蓝色。迅即出现黄白色沉淀。5℃放置几小时后，滤出氯乙酰-DL-色氨酸，在研钵中和冰水一齐磨成细粉，再过滤，再以冰水洗涤后在水中重结晶。28.1 g 氯乙酰-DL-色氨酸悬浮于800mL水中，加入2mol/L氢氧化锂使之溶解并将溶液调至 pH7.0～7.2，加水稀释至1L。加入300mg粗的胰羧肽酶，38℃保温24小时后，再加 50mg 上述酶，继续保温12小时。加乙酸酸化至pH5，过滤，滤液减压浓缩至小体积，加入乙醇至65%。5℃放置18小时，滤出结晶L-色氨酸，以乙醇与乙醚洗涤。母液及乙醇洗涤液留作制备D-色氨酸。上述结晶L-色氨酸在水-乙醇（65%乙醇）中重结晶，得约7 g 纯L-色氨酸。

贮存 室温避光。

参 考 文 献

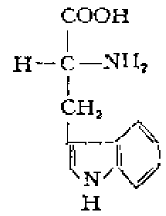
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2341, 1961.

D-色氨酸　　　　Ⅱ-1(1)-0112

D-Tryptophan

别名　D-α-Amino-3-indole-propionic acid

结构式



分子式　$C_{11}H_{12}N_2O_2$　　　　**分子量**　204.13

理化性质　结晶。溶于水。

理化参数　熔点281～282℃。$[\alpha]_D^{25}$ −2.8°(C=1～2，1 mol/L 盐酸)，+33.7°(C=1～2，水)。

制备方法[1]　氯乙酰-DL-色氨酸经羧肽酶拆分，L-色氨酸结晶后的母液（参阅L-色氨酸制备方法）以干燥的干净空气吹干。残渣溶于最少量水，以10%硫酸酸化至刚果红呈蓝色。氯乙酰-D-色氨酸迅即结晶，冰冷几小时后，抽气过滤，以少量冰水洗涤后干燥。再溶于丙酮，如溶液混浊滤清之。滤液以干燥的干净空气吹去溶剂，残液为氯乙酰-D-色氨酸结晶。将2.81g氯乙酰-D-色氨酸与3.62g邻苯二胺在50mL1mol/L氢氧化锂中回流1小时，减压浓缩至干，残渣在最少量的65%乙醇中重结晶。−10℃放置20小时，滤出生成的D-色氨酸结晶，同样条件进行重结晶。

贮存　室温避光。

参考文献

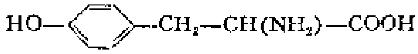
[1] Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2342, 1961.

DL-酪氨酸　　　　Ⅱ-1(1)-0113

DL-Tyrosine

别名　DL-β-(p-Hydroxyphenyl) alanine；　DL-α-Amino-β-hydroxyphenylpropionic acid

结构式



分子式　$C_9H_{11}NO_3$　　　　**分子量**　181.19

理化性质　片状或针状结晶。微溶于水、乙醇；不溶于乙醚。

理化参数　熔点316℃（分解）。25℃，I=0.16 pK_1 2.20，pK_2 9.11，pK_3 10.13。吸收光谱：0.1mol/L盐酸中$\lambda_{最大}$223nm ε8200，$\lambda_{最大}$274.5nm ε1340；0.1mol/L氢氧化钠中$\lambda_{最大}$240nm ε 11050，$\lambda_{最大}$293.5nm ε2330。

制备方法[1] 181.2 g L-酪氨酸溶于 3200 mL 2.5 mol/L 氢氧化钠溶液中，冰冷及搅拌下 2 小时内滴加乙酸酐410mL。加入浓盐酸至刚果红试纸呈深蓝色。0℃放置数小时后，*O*,*N*-二乙酰-L-酪氨酸析出。滤出。用少量冰水洗涤，产量159.5 g。将265g*O*,*N*-二乙酰-L-酪氨酸溶于1500mL沸腾的冰乙酸中，细心地加入112 mL 乙酸酐，煮沸 5 分钟后，冷至室温。减压蒸去溶剂，残渣溶于 2L 3mol/L盐酸，回流 2 小时。趁热以活性炭处理，过滤，滤液减压浓缩。残渣溶于约500mL水，然后，以25%氨氧化铵处理至pH5～6。DL-酪氨酸立即结晶。冰冷此溶液几个小时，滤出结晶，用冷水洗至无铵离子和氯离子。DL-酪氨酸产量约155 g。

贮存 室温。

参 考 文 献

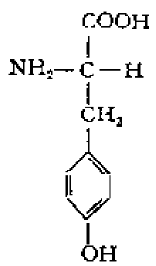
〔1〕 Bergmann, M. and Zervas, L.; "*Biochem. Z.*, 203, 280(1928).

L-酪氨酸 Ⅱ-1(1)-0114

L-Tyrosine

别名 L-β-(*p*-Hydroxyphenyl)alanine; L-α-Amino-β-hydroxyphenyl-propionic acid

结构式



分子式 $C_9H_{11}NO_3$ **分子量** 181.19

理化性质 自水中得丝光针状结晶。微溶于水，乙醇；溶于碱性水溶液；不溶于乙醚。

理化参数 熔点342～344℃(分解)。$[\alpha]_D^{25}$ -10.0°(*C*=2，5mol/L盐酸)。

制备方法[1] 1 kg 酪蛋白悬浮于 6 L 10 mol/L 盐酸中，回流 20 小时后，过滤。滤液减压浓缩至干，残渣溶于约4 L 热水，快速搅拌下加入40%氢氧化钠至 pH 2.4。加活性炭于此热溶液中，趁热过滤，并以热水洗滤渣。滤液和洗涤液冷却后，以40%氢氧化钠调至pH5，浓缩溶液至出现结晶。冷却几小时后过滤出 L-酪氨酸粗结晶，以水洗涤，在热水中重结晶，产量约24 g。

贮存 室温。

参 考 文 献

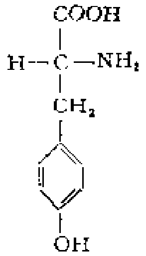
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.; "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2351, 1961.

D-酪氨酸 Ⅱ-1(1)-0115

D-Tyrosine

别名 D-β-(*p*-Hydroxyphenyl) alanine; D-α-Amino-β-hydroxyphenylpropionic acid

结构式



分子式 $C_9H_{11}NO_3$ **分子量** 181.19

理化性质 白色针状结晶。微溶于水。

理化参数 熔点310～314℃(分解)。$[\alpha]_D^{25}$ +10.0°(C=2，5mol/L盐酸)。

制备方法[1] 181.2g DL-酪氨酸溶于1 L 2 mol/L 氢氧化钠中，在5 ℃，剧烈搅拌下交替滴加124 g 氯乙酰氯和500mL2mol/L氢氧化钠溶液。在此过程中，反应混合物维持在pH9～10，并有少量酪氨酸沉淀。反应完成后，滤去沉淀的酪氨酸，滤液以浓盐酸酸化至刚果红呈深蓝色。减压浓缩至干，胶状残渣以沸丙酮萃取几次。合并丙酮萃取液，以干燥空气吹干。残渣以石油醚处理，析出氯乙酰-DL-酪氨酸结晶，在热乙酸乙酯-石油醚中重结晶。25.8 g 氯乙酰-DL-酪氨酸悬浮于800mL水中，加入2mol/L氢氧化锂调溶液pH在7.0～7.2，加水稀释至1L。100mg 粗羧肽酶加入其中，38℃保温24小时，水解完全时整个容器中充满L-酪氨酸结晶。加乙酸酸化至pH5，5℃放置几个小时后过滤。以少量水洗涤滤渣。滤液含有氯乙酰-D-酪氨酸及微量不沉淀的L-酪氨酸，以浓盐酸酸化至刚果红呈蓝色反应。35℃减压浓缩至干。水解氯乙酰-D-酪氨酸制取D-酪氨酸的步骤完全相同于 *O,N*-二乙酰-DL-酪氨酸制取DL-酪氨酸，先溶于沸冰乙酸中加入乙酸酐，煮沸5分钟后冷却，减压浓缩至干。残渣与盐酸回流后，调至pH5～6，D-酪氨酸立即结晶〔参阅 DL-酪氨酸（Ⅱ-1(1)-0113制备方法〕。

贮存 室温。

参考文献

〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2363, 1961.

DL-缬氨酸 Ⅱ-1(1)-0116

DL-Valine

别名 DL-α-Amino-isovaleric acid

结构式 $(CH_3)_2CH-CH(NH_2)-COOH$

分子式 $C_5H_{11}NO_2$ **分子量** 117.15

理化性质 自乙醇中得单斜片状结晶。溶于水(25℃ 7.04 g/100ml水，75℃ 12.61 g/100ml水)；微溶于乙醇；不溶于醚。升华。

理化参数 熔点298℃(分解)。25℃ $pK_1$2.29，$pK_2$9.74

制备方法[1] 60 g 氯化铵，66 g 氰化钾，400 mL 水和155 mL 浓氨水混合，搅拌下滴加91mL新蒸异丁醛，约半小时滴完。加入100mL 乙醚，连续搅拌6小时。放置过夜，反应混合物倒入一连续萃取器，以250mL乙醚萃取。室温下减压蒸去乙醚，残渣以500mL浓盐酸处理，振荡后室温放置过夜，回流24小时。在水浴上减压蒸干，残渣加入300mL水，与活

性炭共沸半小时。过滤，滤液再一次减压浓缩至干。加入500mL乙醇，回流几分钟后冷却，滤去不溶的氯化铵，滤液中加入100mL吡啶，混匀后冷室放置过夜。抽滤析出的DL-缬氨酸，以乙醇洗涤，每次25mL，直至洗尽吡啶。产量约76.3g，在水-乙醇中重结晶。

贮存 室温。

参 考 文 献

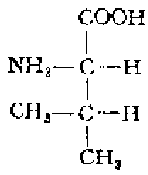
〔1〕 Gaudry, R.: *Can. J. Research.*, 24B, 301(1946).

L-缬氨酸 Ⅱ-1(1)-0117

L-Valine

别名 L-α-Amino-isovaleric acid

结构式



分子式 $C_5H_{11}NO_2$ **分子量** 117.15

理化性质 自乙醇中得六方形小叶状结晶。溶于水（25℃ 8.85g/100mL水，65℃ 10.24g/100mL水）；微溶于乙醇；不溶于乙醚。

理化参数 熔点315℃(分解)。$[\alpha]_D^{25}$ +28.3°(C=1～2，5 mol/L盐酸) -5.63° (C=1～2，水)。

制备方法[1] 117.1g DL-缬氨酸与110 mL冰乙酸，150 mL乙酸酐混合制取乙酰-DL-缬氨酸，方法完全与制取乙酰-DL-丙氨酸相同〔参阅L-丙氨酸（Ⅱ-1(1)-0002）制备方法〕。将15.1g乙酰-DL-缬氨酸悬浮于800mL水中，加入1～2滴酚红，以25%氢氧化铵调至pH7.0～7.2。此时乙酸-DL-缬氨酸溶解。加水稀释至1L。加入35mg酰化酶Ⅰ，38℃保温24小时，以下的操作完全相同于L-丙氨酸的制取得纯L-缬氨酸约4g。

贮存 室温。

参 考 文 献

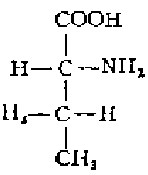
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons Inc. 2375, 1961.

D-缬氨酸 Ⅱ-1(1)-0118

D-Valine

别名 D-α-Amino-isovaleric acid

结构式



分子式 $C_5H_{11}NO_2$　　**分子量** 117.15

理化性质 自乙醇中得片状结晶。溶于水（20℃5.3g/100mL水）；微溶于乙醇；不溶于乙醚。

理化参数 熔点293℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}$ −28.3°（C=1～2，5mol/L盐酸）−5.63°（C=1～2，水）。

制备方法[1] 乙酰-DL-缬氨酸拆分制取L-缬氨酸，L-缬氨酸结晶后的母液及乙醇洗涤液（参阅L-缬氨酸制备方法）25℃减压浓缩至干。加入50mL水，再次减压蒸干。重复上述步骤2次，务必去尽乙醇。残渣为乙酰-D-缬氨酸，乙酸铵和少量L-缬氨酸。残渣溶于约50mL热水，冰冷后，加入浓盐酸至刚果红试纸变蓝。摩擦器皿壁并继续冰冷，析出乙酰-D-缬氨酸结晶。以冰水洗涤，五氧化二磷真空干燥器内干燥。溶于热丙酮，滤去少许不溶物后，滤液空气吹干。残渣为纯乙酰-D-缬氨酸。将其悬浮于150mL 2mol/L盐酸中回流2小时，以下的操作完全相同于D-丙氨酸（Ⅱ-1(1)-0003）的制取。D-缬氨酸产量约3-4g。

贮存 室温。

参 考 文 献

〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.; "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2376, 1961.

DL-异缬氨酸　　Ⅱ-1(1)-0119

DL-Isovaline

别名 DL-2-Amino-2-methyl-butyric acid

结构式

$$CH_3—CH_2—C(NH_2)(CH_3)—COOH$$

分子式 $C_5H_{11}NO_2$　　**分子量** 117.15

理化性质 自乙醇-乙醚中得菱形针状结晶。溶于水及乙醇。

理化参数 熔点315℃。

制备方法[1] 55g氯化铵，62g氢氧化铵（相对密度0.90）和65g纯氰化钾溶于240mL水中，摇匀。加入甲乙酮的乙醇溶液（72g甲乙酮溶于300mL无水乙醇）。混合物在60℃加热5小时。冷至0℃，倒入800mL冷的浓盐酸中。0℃通入氯化氢气体直至饱和。5℃放置数小时，以1L水稀释后，回流2～3小时。活性炭处理，过滤，滤液减压浓缩至干。残渣可用少量乙醚沥去有色杂质。残渣溶于300mL水，加入略为过量的碳酸银。滤去氯化银沉淀，滤液用乙酸酸化后，通入硫化氢。过滤，滤液减压浓缩至干。残渣在冷的无水乙醇中摩擦，更换乙醇几次后，胶状残渣渐转化成结晶的DL-异缬氨酸，在水-丙酮中重结晶，产量79g。

贮存 室温。

参 考 文 献

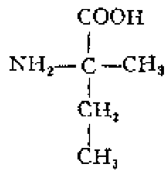
〔1〕 Levene, P. A. and Steiger, R. E.; *J. Biol. Chem.*, 76, 299(1928).

L-异缬氨酸 Ⅱ-1(1)-0120

L-Isovaline

别名 L-2-Amino-2-methyl-butyric acid

结构式



分子式 $C_5H_{11}NO_2$ **分子量** 117.15

理化性质 自水-丙酮中得针状结晶。溶于水、乙醇。

理化参数 $[\alpha]_D^{25}+11.2°$($C=2$, 水), $+6.6°$($C=5$,5mol/L盐酸)。

制备方法[1] 117 g DL-异白氨酸溶于 500 mL 冰冷的 2 mol/L 氢氧化钠溶液中，剧烈搅拌与冷却下交替分批加入125 g 氯乙酰氯及550mL冷的2mol/L氢氧化钠溶液。反应结束后，浓盐酸酸化至pH1.7，冰冷，析出的氯乙酰-DL-异缬氨酸滤出后，以冷水洗涤，在水中重结晶。将19.4 g 氯乙酰-DL-异缬氨酸悬浮于800mL水中，用2mol/L氢氧化钠调至pH7.5。加水稀释至1L。加入1 g 酰化酶 I，38℃保温24小时。补加0.5 g 酰化酶 I，38℃再保温24小时。稀盐酸酸化混合液至pH5，加入活性炭助滤，滤液减压浓缩至约100mL。过滤，滤液倒入Dowex50(H^+)阳离子交换树脂柱。以水淋洗交换树脂柱，至流出液的pH升高至刚果红的变色点。合并流出液，流出液中含有氯乙酰-D-异缬氨酸，留作制取D-异缬氨酸。继续以2.5 N盐酸洗脱，直至洗脱液无茚三酮反应。盐酸洗脱液减压浓缩至干。残渣以热乙醇抽提几次，合并抽提液，过滤，滤液减压至干。残渣溶于水，以略为过量的碳酸银处理。滤去氯化银，滤液通硫化氢饱和。滤去硫化银沉淀，滤液减压浓缩至小体积，加入过量丙酮，析出L-异缬氨酸沉淀，在水-丙酮中重结晶。

贮存 室温。

参 考 文 献

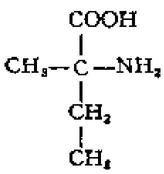
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2575, 1961.

D-异缬氨酸 Ⅱ-1(1)-0121

D-Isovaline

别名 D-2-Amino-2-methyl-butyric acid

结构式



分子式 $C_5H_{11}NO_2$ **分子量** 117.15

理化性质 自水-乙醇中得针状结晶。溶于水。

理化参数 $[\alpha]_D^{25}-11.2°(C=2,$ 水)。

制备方法[1] 氯乙酰-DL-异缬氨酸经酰化酶I水解，水解液通过阳离子交换树脂的流出液及水洗液〔参阅L-异缬氨酸(Ⅱ-1(1)-0120)制备方法〕减压蒸干。残渣以丙酮抽提。抽提液过滤后，以空气吹去溶剂，残渣为氯乙酰-D-异缬氨酸，残渣在丙酮-乙醚中重结晶。将5g氯乙酰-D-异缬氨酸溶于100mL热2mol/L盐酸，回流2小时。溶液以活性炭处理，过滤减压蒸干。残渣溶于100mL水，以略为过量的碳酸银处理，过滤。滤液通硫化氢气体至饱和，滤去硫化银沉淀，滤液减压浓缩至小体积，加入过量丙酮沉淀D-异缬氨酸，在水-丙酮中重结晶。

贮存 室温。

参 考 文 献

〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc, 2575, 1961.

DL-正缬氨酸 Ⅱ-1(1)-0122

DL-Norvaline

别名 DL-α-Amino-*n*-valeric acid; DL-α-Propyl-glycine

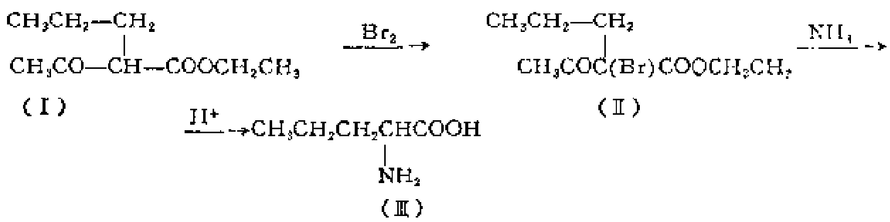
结构式 $CH_3—CH_2—CH_2—CH(NH_2)COOH$

分子式 $C_5H_{11}NO_2$ **分子量** 117.15

理化性质 自水中得片状结晶。溶于水(15℃ 10.7g/100mL)；微溶于乙醇；不溶于乙醚、三氯甲烷、丙酮、石油醚。

理化参数 熔点285～292℃。

制备方法[1]



α-正丙基乙酰乙酸乙酯溴化后，氨解得正缬氨酸。操作方法完全相同于制取DL-正白氨酸(Ⅱ-1(1)-0078)

贮存 室温。

参 考 文 献

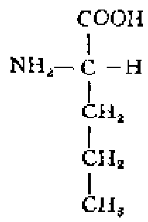
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2393, 1961.

L-正缬氨酸 Ⅱ-1(1)-0123

L-Norvaline

别名 L-α-Amino-*n*-valeric acid; L-α-Propyl-glycine

结构式



分子式 $C_5H_{11}NO_2$ **分子量** 117.15

理化性质 自水中得片状结晶或针状结晶，溶于水（15℃ 10.75 g/100 mL水）；微溶于乙醇；不溶于乙醚，三氯甲烷，丙酮，石油醚。

理化参数 熔点291～295 ℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}$ 24.1°（C=1～2，5 mol/L盐酸），+7.0。（C=1～2，水），24.8(6mol/L盐酸)。

制备方法[1] L-正缬氨酸的制取完全与L-缬氨酸（Ⅱ-1(1)-0117)的制取方法相同。将117.1g DL-正缬氨酸乙酰化后，以酰化酶Ⅰ拆分得L-正缬氨酸结晶。

贮存 室温。

参 考 文 献

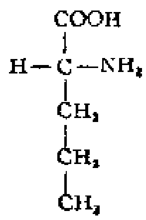
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.; "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3. J. Wiley and Sons, Inc. 2395, 1961.

D-正缬氨酸 Ⅱ-1(1)-0124

D-Norvaline

别名 D-α-Amino-*n*-Valeric acid; D-α-Propyl-glycine

结构式



分子式 $C_5H_{11}NO_2$ **分子量** 117.15

理化性质 结晶。溶于水。

理化参数 $[\alpha]_D$ −24.8°(6mol/L盐酸)。

制备方法[1] D-正缬氨酸的制取完全相同于D-缬氨酸（Ⅱ-1(1)-0118）的制取。将DL-正缬氨酸乙酰化后，以酰化酶Ⅰ拆分，L-正缬氨酸结晶后的母液分离出乙酰-D-正缬氨酸，在酸性条件下除去乙酰基得D-正缬氨酸。

贮存 室温。

参 考 文 献

〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.; "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2395, 1961.

DL-β-氨基丁酸　　Ⅱ-1(1)-0125

DL-β-Aminobutyric acid

别名　DL-2-Amino-n-butyricacid

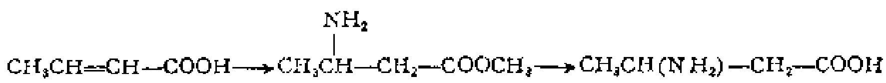
结构式　$CH_3—CH(NH_2)—CH_2—COOH$

分子式　$C_4H_9NO_2$　　**分子量**　103.12

理化性质　结晶。溶于水；不溶于冷的无水乙醇和乙醚。

理化参数　熔点193～194℃。

制备方法[1]



(Ⅰ)　　(Ⅱ)　　(Ⅲ)

100g巴豆酸(Ⅰ)与1L室温饱和氨水混和，在130～140℃油浴中加热24小时，蒸干。残渣反复加水并蒸干数次。加入过量盐酸，蒸干后，溶于500mL甲醇，通入干氯化氢气。放置数小时后，减压蒸去甲醇。残渣为厚浆状β-氨基丁酸甲酯盐酸盐。0℃，加于50mL氨饱和甲醇中振荡。加入500mL乙醚，滤去沉淀的氯化铵，滤液以碳酸钾干燥。20℃以下减压浓缩，残渣用乙醚萃取几次。无水硫酸钠干燥萃取液。在2000Pa压力下将萃取液进行分馏，收集45～80℃馏分，得约80g DL-β-氨基丁酸甲酯(Ⅱ)。将(Ⅱ)与10倍量水共热，浓缩后，得DL-β-氨基丁酸粗品。将粗品溶于20倍无水热甲醇中，浓缩，待溶液变稠厚后加入10倍无水乙醇，冷却，得纯品DL-β氨基丁酸结晶。

贮存　室温。

参 考 文 献

[1] Fischer, E. and Scheibler, H.: *Ann.*, 383, 339(1911).

6-氨基己酸　　Ⅱ-1(1)-0126

6-Amino caproic acid

别名　6-Aminohexonic acid; ϵ-Aminocaproic acid

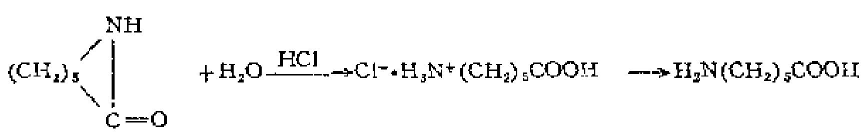
结构式　$CH_2(NH_2)—CH_2—CH_2—CH_2—CH_2—COOH$

分子式　$C_6H_{13}NO_2$　　**分子量**　131.18

理化性质　乙醇中结晶。溶于水；微溶于甲醇；不溶于乙醇。

理化参数　熔点204～206℃。pK_1 4.43，$pK_2$10.15

制备方法[1]



(Ⅰ)　　(Ⅱ)　　(Ⅲ)

50g 2-酮己甲基亚胺(Ⅰ)倒入盐酸溶液（45mL浓盐酸溶于150mL水）中，反应混合物

沸腾1小时。生成的黄色溶液以活性炭脱色后，蒸汽浴上浓缩至干。得到的残渣固体为6-氨基己酸盐酸盐(Ⅱ)通过-钠型阳离子交换树脂柱，收集流出液，并以水淋洗柱。收集到的浅红色液体减压浓缩至约100mL，活性炭脱色后，加入300mL无水乙醇及500mL乙醚。剧烈振荡，儿分钟内即有白色沉淀形成。收集沉淀为6-氨基己酸(Ⅲ)，真空干燥，产量52g。

贮存 室温。

参 考 文 献

〔1〕 Meyers, C. Y. and Miller, L. E.; "Organic. Syntheses", 32, 13, 1952.

DL-2-氨基正辛酸 Ⅱ-1(1)-0127

DL-2-Aminocaprylic acid

结构式 $CH_3—CH_2—CH_2—CH_2—CH_2—CH_2—CH(NH_2)—COOH$

分子式 $C_8H_{17}NO_2$ **分子量** 159.23

理化性质 自乙醇中得结晶。

理化参数 熔点204～206℃（分解）。

制备方法[1] 将225g α-溴代正辛酸溶于乙醇铵溶液（0℃，氨饱和的乙醇溶液)中，室温放置1～3天，蒸去溶剂，残渣溶于少量稀氢氧化钠溶液，以乙酸酸化，得DL-2-氨基正辛酸结晶。

贮存 室温。

参 考 文 献

〔1〕 Lang, K. and Adickes, F.; *Z. Physiol. Chem.* 269, 236(1941).

氨基丙二酸 Ⅱ-1(1)-0128

Aminomalonic acid

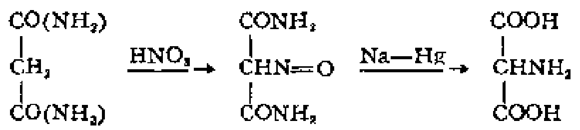
结构式 $COOH—CH(NH_2)—COOH$

分子式 $C_3H_5NO_4$ **分子量** 119.08

理化性质 棱柱形结晶，含水。在干燥器内失去结晶水。溶于水；微溶于乙醇。沸水中分解成甘氨酸，以铅盐或钡盐的形式保存。

理化参数 熔点109℃（分解）。

制备方法[1]



（Ⅰ） （Ⅱ） （Ⅲ）

102g丙二酸酰胺(Ⅰ)分批小量投入冰冷的800mL发烟硝酸中。溶液倒于碎冰块上，抽气过滤，滤出硝基丙二酸酰胺(Ⅱ)，用冰水洗涤。取20g钠汞齐碎屑，上盖300mL水。将25g(Ⅱ)溶于75mL 10%氢氧化铵中，冰冷下迅速在搅拌下加于上述钠汞齐。放置数小时后，

先将上层液倾出，然后过滤。合并倾出液和滤液在室温减压浓缩至干。残渣溶于1000mL水，乙酸酸化至pH6，加入乙酸铅水溶液直至不再产生沉淀。滤出生成的氨基丙二酸铅盐，以冷水洗涤后，悬浮于100mL水中，通入硫化氢气体，滤去硫化铅沉淀后，滤液减压浓缩至干。残渣即纯氨基丙二酸结晶。

贮存 室温（铅盐或钡盐）。

参 考 文 献

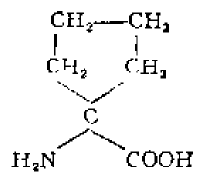
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, J. Wiley and Sons, Inc. 2407, 1961.

环 白 氨 酸 Ⅱ-1(1)-0129

Cycloleucine

别名 环亮氨酸；1-Amino cyclopentane-1-carboxylic acid

结构式



分子式 $C_6H_{11}NO_2$ **分子量** 129.16

理化性质 自乙醇-水中结晶。溶于水（5g/100mL水）。生成稳定的金属盐。

理化参数 熔点330℃（分解）。

制备方法[1] 14.9g乙内酰脲-5-螺环戊烷与53.3g氢氧化钡（含8分子水），325mL水混合，160℃加热2小时。冷却后，滤去沉淀的硫酸钡，滤液加入12g碳酸铵，过滤。滤液浓缩后得环白氨酸11.7g，120℃干燥3小时。

贮存 低温（<0℃）。

参 考 文 献

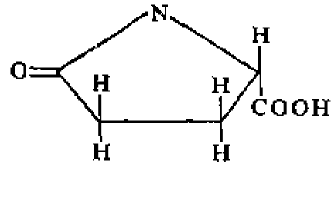
〔1〕 Connors, T. A. and Ross, W. C. J.: *J. Chem. Soc.*, 2119(1960).

L-焦谷氨酸 Ⅱ-1(1)-0130

L-Pyroglutamic acid

别名 L-2-吡咯酮-5-羧酸 L-2-Pyrrolidone-5-carboxylic acid; L-5-Oxoproline

结构式

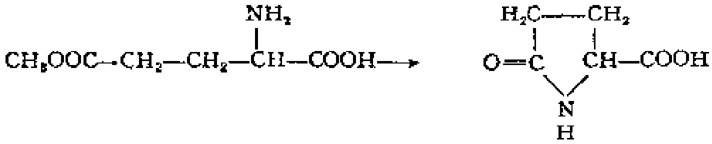


分子式 $C_5H_7NO_3$　　**分子量** 129.13

理化性质 无色结晶。溶于水、乙醇和冰乙酸；微溶于乙酸乙酯；不溶于乙醚。

理化参数 $[\alpha]_D -11.3°(C=2,\ 水)$。

制备方法[1]



（Ⅰ）　　　　（Ⅱ）

5g L-谷氨酸甲酯（Ⅰ）溶于150mL甲醇，通入干燥的氨气至饱和，4小时后，反应完毕。蒸干，加入乙醇再蒸干。残渣溶于31mL/mol/L盐酸，300mL丙酮，过滤。滤液蒸干，以热甲乙酮溶解残渣，加入四氯化碳直至沉淀完全。得L-焦谷氨酸（Ⅱ）产量3.89g。同法重结晶得3.82g。

贮存 室温。

参 考 文 献

〔1〕 Brecham, A. F.; *J. Am. Chem. Soc.*, 76, 4615(1954).

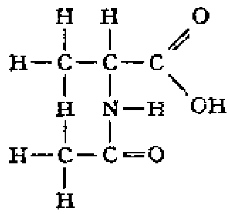
第二节　氨基酸衍生物

N-乙酰-DL-丙氨酸　　Ⅱ-1(2)-0001

N-Acetyl-DL-alanine

别名 α-乙酰-DL-氨基丙酸　α-Acetyl-DL-amino propionic acid

结构式



分子式 $C_5H_9NO_3$　　**分子量** 131.14

理化性质 白色结晶。极易溶于水；溶于冰乙酸和热的乙酸乙酯；不溶于苯。

理化参数 熔点137℃。

制备方法[1] 89 g DL-丙氨酸于2L的圆底烧瓶中，加入900 mL冰乙酸（化学纯），用电热套加热，烧瓶顶端装氯化钙干燥管后，与外界大气相通，待溶液沸腾后取出，稍稍冷却，此时氨基酸完全溶解，小心加入150mL醋酸酐（化学纯），再放回到电热套中加热至沸腾，保持2分钟沸腾，取出冷却到室温（25℃），溶液呈亮黄色，在40℃真空浓缩至干，加入蒸馏水后再浓缩至干，反复操作直至基本无冰醋酸的刺激气味，再加入苯抽干，以除去微量的水，而后再加入干燥的乙酸乙酯，加热溶解，溶液冷却，加入晶种可迅速结晶，置冰箱过夜，次日过滤，得带有微黄色的结晶，25℃真空干燥后，得白色结晶。产量105g，产率80%。

贮存 密封和干燥贮存。

参 考 文 献

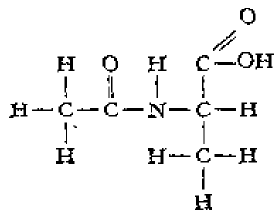
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, m. ;"Chemistry of the Amino acids", Vol. 3, N. Y. Wiley, 1824, 1961.

N-乙酰-L-丙氨酸　　Ⅱ-1(2)-0002

N-Acetyl-L-alanine

别名　α-乙酰-L-氨基丙酸　α-Acetyl-L-amino propionic acid

结构式



分子式　$C_5H_9NO_3$　　**分子量**　131.14

理化性质　白色结晶。极易溶于水；溶于冰乙酸，和热乙酸乙酯；不溶于苯。

理化参数　熔点125℃。$[\alpha]^{20}_{D}-66.5°$（$C=2$，水中）。

制备方法[1]　参阅N-乙酰-D-丙氨酸（Ⅱ-1(2)-0003）的制备。

贮存　于密闭和干燥的容器中。

参 考 文 献

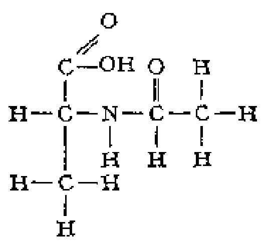
〔1〕 Rao, K. R. et al: *J. Biol. Chem.*, 198, 507(1952).

N-乙酰-D-丙氨酸　　Ⅱ-1(2)-0003

N-Acetyl-D-alanine

别名　α-乙酰-D-氨基丙酸 α-Acetyl-D-amino propionic acid

结构式



分子式　$C_5H_9NO_3$　　**分子量**　131.14

理化性质　白色结晶。极易溶于水；溶于冰乙酸，和热乙酸乙酯；不溶于苯。

理化参数　熔点125℃。$[\alpha]^{20}_{D}+66.5°$（$C=2$，水中）。

制备方法[1]　13.1g乙酰-DL-丙氨酸溶于800mL的蒸馏水中，用25%的氢氧化氨调pH到7.0～7.2，而后加蒸馏水到1L；加入酰化酶Ⅰ，38℃保温24小时，用茱脲酸滴定法测其水介程度，待完全将L-型的酰基水介后，加入无水乙醇，使溶液成80%的乙醇溶液，在5℃待数小时，L-丙氨酸结晶沉出，过滤除去结晶，母液浓缩成小体积，重复一次上述操作，取

得L-丙氨酸，母液再浓缩至干，残渣用50mL冷蒸馏水溶解，用2.5mol/L的硫酸调pH到刚果红试剂成深蓝色，溶液于30℃真空浓缩至干，残渣用100mL热丙酮抽提，合并5次抽提液，浓缩得微黄色结晶，过滤，干燥。再用乙酸乙酯溶解，而后加入干燥乙醚得结晶。

参 考 文 献

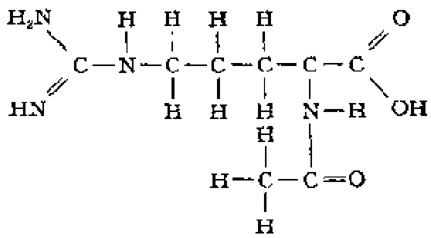
〔1〕 Baker, C. G. and Sober, H. A.; *J. Am. Chem. Soc.*, 75., 4058(1953).

N-乙酰-DL-精氨酸 Ⅱ-1(2)-0004

N-Acetyl-DL-Arginine

别名 *N*-α-乙酰-DL-蛋白氨基酸

结构式



分子式 $C_8H_{16}N_4O_3$ **分子量** 216.24（含2分子结晶水的分子量为252.27）

理化性质 白色结晶。微溶于水；溶于热水。

理化参数 含有2分子结晶水的产品熔点108°～110℃。

制备方法[1] 250g乙酰-L-精氨酸溶于2L热水中，而后在冰浴中冷却，加入1250mL乙酸酐，振荡，在38℃保温24小时，真空浓缩至干，加入蒸馏水后，再真空浓缩至干，共3次。而后加入500mL蒸馏水，过滤后用2L丙酮加入后产生沉淀，放置片刻，待其沉淀完全后过滤，用70%的丙酮溶液洗涤结晶，而后用丙酮洗，最后用乙醚洗涤。产品除去乙醚后，真空干燥得80%产率的产物。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

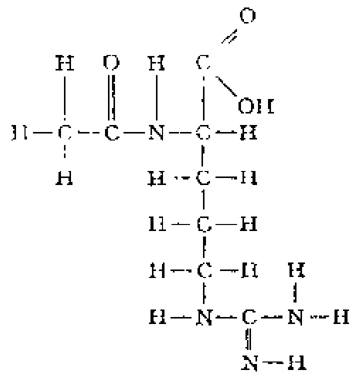
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.; "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, N. Y. Wiley, 1850 1961.

N-乙酰-L-精氨酸 Ⅱ-1(2)-0005

N-Acetyl-L-arginine

别名 *N*-乙酰-L-蛋白氨基酸

结构式



分子式 $C_8H_{16}N_4O_3$ **分子量** 216.24

（含有2分子结晶水的分子量252.27）

理化性质 白色结晶。微溶于水；溶于热水。

理化参数 含有2分子结晶水的产品，熔点270℃。$[\alpha]_D^{20}$ -7.0（在1mol/l盐酸中）。

制备方法[1] 210.5g L-精氨酸盐酸盐(1mol)和168g碳酸钠溶于1L蒸馏水中，加到容量为2L的三颈圆底烧瓶中，而后在盐冰浴中冷却到5℃。在三颈瓶上装置搅拌器，温度计和溶液滴加器，在搅拌下滴加入125mL乙酸酐，10分钟加毕，继续搅拌20分钟，用25%的氨水调节pH到8.0，溶液在5℃放置过夜，次日有白色结晶析出，过滤，结晶用少量冰水洗涤；取出结晶置烧杯中，用少量热水溶介，而后冷却至室温，放置冰箱过夜，次日有结晶产生，过滤得重结晶产品，产率为80%。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

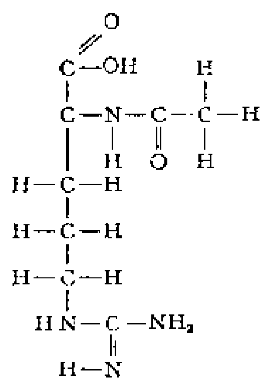
〔1〕 Birnbaum, S. M. et, al: *Arch Biochem. Biophys.*, 60, 496(1956).

N-乙酰-D-精氨酸 Ⅱ-1(2)-0006

N-Acetyl-D-arginine

别名 *N*-乙酰-D-蛋白氨基酸

结构式



分子式 $C_8H_{16}N_4O_3$ **分子量** 216.24

（含有2分子结晶水的分子量为252.27）

理化性质 白色结晶。微溶于水；溶于热水。

理化参数 含有2分子结晶水的产品熔点为270℃。$[\alpha]_D^{20}+7.0°$（于1 mol/L的盐酸溶液中）。

制备方法[1] 25.2g乙酰-DL-精氨酸（含2分子结晶水），溶于800 mL蒸馏水中，用稀氢氧化钠溶液调pH到7.2，而后配制成1L，加入酰化酶Ⅰ搅拌均匀，在38℃时保温24小时，而后再加入酰化酶（原来的一半），保温12小时。用乙酸调pH5，过滤除去沉淀，滤液加入癸醇真空浓缩到50mL，5℃保持数天得乙酰-D-精氨酸，过滤得11.5g，产率91%。母液中为*L*-精氨酸。

贮存 干燥密闭。

参 考 文 献

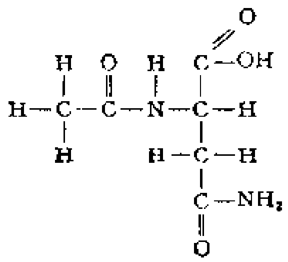
〔1〕 Birmbaum, S. M. and Greenstein, J. P.: *Arch Biochem. biophys.*, 39,108(1952).

N-乙酰-L-天冬酰胺　　Ⅱ-1(2)-0007

N-Acetyl-L-asparagine

别名 *N*-乙酰天冬素；*α*-乙酰氨基-*γ*-L-乙酰氨基丁二酸 *α*-Acetyl amino-*γ*-acetylamino butanedioic acid

结构式



分子式 $C_6H_{10}N_2O_4$　　**分子量** 174.16

理化性质 白色结晶。溶于水。

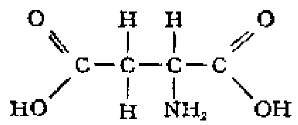
贮存 干燥密闭贮存。

N-乙酰-DL-天冬氨酸　　Ⅱ-1(2)-0008

N-Acetyl-DL-aspartic acid

别名 *α*-乙酰-DL-氨基丁二酸 *α*-Acetyl-DL-amino butanedioic acid；*α*-乙酰-DL-氨基琥珀酸 *α*-Acetyl-DL-aminosuccinic acid

结构式



分子式 $C_6H_9NO_5$　　**分子量** 175.14

理化性质 白色固体。易溶于水；溶于冰醋酸和甲基溶纤剂；微溶于丙酮。熔点150℃，无结晶水的熔点为143～144℃。

制备方法[1] 1L三颈瓶中加500mL 4mol/L氢氧化钠溶液，而后再加入133g DL-天冬氨酸，装上搅拌器及温度计。而后三颈瓶置盐冰浴中边搅拌溶解，边冷却到5℃。在搅拌下滴加入150mL乙酸酐，10分钟内加完，继续搅拌20分钟，而后调pH到8.0，溶液放置数周后，得白色固体，产率80%。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

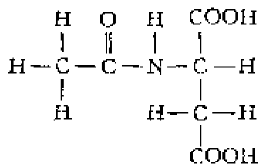
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, N. Y. Wiley, 1874 1961.

N-乙酰-L-天冬氨酸 Ⅱ-1(2)-0009

N-Acetyl-L-aspartic acid

别名 α-乙酰-L-氨基丁二酸 α-Acetyl-L-aminosuccinic acid; α-乙酰-L-氨基琥珀酸 α-Acetyl-L-amino butanedioic acid

结构式



分子式 $C_6H_9NO_5$ **分子量** 175.14

理化性质 从乙酸水溶液中得到的为油状物，需二个月才能慢慢地形成微晶体。易溶于水；溶于冰乙酸和甲基溶纤剂；微溶于丙酮。

理化参数 熔点为142℃；无结晶水的熔点为173℃。$[\alpha]_D+57°$（于冰乙酸中）。

制备方法[1] 以L-天冬氨酸为原料，按照乙酰-DL-天冬氨酸（Ⅱ-1(2)-0008）的方法合成。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

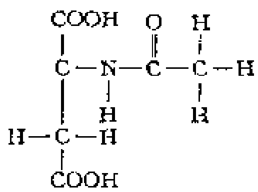
〔1〕 Marshsall, R. et al: *J. Am. Chem. Soc.*, 78, 4636(1956).

N-乙酰-D-天冬氨酸 Ⅱ-1(2)-0010

N-acetyl-D-aspartic acid

别名 α-乙酰-D-氨基丁二酸 α-Acetyl-D-amino butanedioic acid; α-乙酰-D-氨基琥珀酰 α-Acetyl-D-aminosuccinic acid

结构式



分子式 $C_6H_9NO_5$ **分子量** 175.14

理化性质 白色结晶。易溶于水，溶于冰乙酸和甲基溶纤剂；微溶于丙酮。

理化参数 熔点142℃。$[\alpha]_D$ −57°（于冰乙酸中）。

制备方法 以D−天冬氨酸为原料，方法同Ⅱ−1(2)−0008。

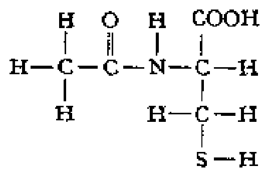
贮存 干燥密闭贮存。

N−乙酰−L−半胱氨酸 Ⅱ−1(2)−0011

N−Acetyl−L−cysteine

别名 *N*−乙酰−3−巯基丙氨酸 *N*−Acetyl−3−mercatoalanine；L−α−乙酰胺基−β−巯基丙酸 L−α−Acetamido−B−mercaptopropionic acid

结构式



分子式 $C_5H_9NO_3S$ **分子量** 163.20

理化性质 白色结晶。溶于水。

理化参数 熔点110～112℃。$[\alpha]_{546}^{20}$，为+6.5°（*C*=2，于水中）。

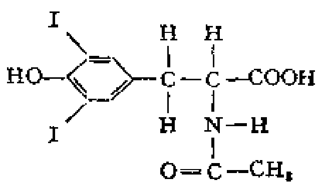
贮存 避光，干燥与密闭贮存。

N−乙酰−3,5−二碘−DL−酪氨酸 Ⅱ−1(2)−0012

N−Acetyl−3,5−diiodo−DL−tyrosine

别名 *N*−乙酰−DL−β−(3,5−二碘−4−羟基)−苯丙氨酸；*N*−Acetyl−DL−(3,5−diiodo−4−hydroxy)−β−phenylalanine；*N*−乙酰−DL−碘珊氨酸 *N*−Acetyl−DL−iodogorgoic acid

结构式



分子式 $C_{11}H_{11}O_4NI_2$ **分子量** 475.03

理化性质 白色带微黄结晶。

理化参数 熔点205～206℃。

制备方法[1] 用3,5−二碘DL−酪氨酸在乙酸酐和氢氧化钠中反应，得*N*,*O*−二乙酰−3,5−二碘−DL−酪氨酸，而后在氢氧化钠溶液中反应，得产品，请参阅*N*−乙酰−3,5−二碘−L−酪氨酸（Ⅱ−1(2)−0013）的制法。

参考文献

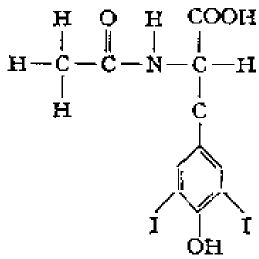
〔1〕 Pitt-Rivers, R.; *Biochem.* J, 43, 223(1948).

N-乙酰-3,5-二碘-L-酪氨酸 Ⅱ-1(2)-0013

N-Acetyl-3,5-diiodo-L-tyrosine

别名 N-乙酰-L-β-(3,5-二碘-4-羟基)-苯丙氨酸 N-Acetyl-L-(3,5-diiodo-4-hydroxy)-β-phenylalanine; N-乙酰-L-碘硼氨酸 N-Acetyl-L-iodogorgoic acid

结构式



分子式 $C_{11}H_{11}O_4NI_2$ **分子量** 475.03

理化性质 白色带微黄色结晶。

理化参数 熔点198～200℃。$[\alpha]_{546}^{30}$为+35.54°

制备方法[1] 10 g 纯的 3,5-二碘酪氨酸溶于 100 mL 4 mol/L 氢氧化钠溶液中，在强烈搅拌下缓缓滴加11mL醋酸酐，之后在25℃放置 2 小时，待反应完全，用6mol/l盐酸35ml酸化溶液，得N,O-二乙酰基化合物的结晶，抽滤得结晶。结晶用100mL热乙醇溶解，脱色过滤，将滤液中滴加入盐酸水溶液，溶液变稠后放置待结晶，待完全结晶后过滤，干燥后，得 9 g 结晶。熔点186～187℃；$[\alpha]_{546}^{30}$+21.52°（于乙醇中）。

25.85 g N, O-二乙酰化合物溶于150mL冷的1mol/L的氢氧化钠溶液中，10分钟之后过滤，滤液稀释到600mL，再加热到75℃，在强烈搅拌下加入1mol/L的盐酸，N-乙酰 3,5-二碘-L-酪氨酸结晶形成，放置几小时后，过滤，结晶用少量水洗涤，干燥后得23 g 成品。

贮存 干燥，避光密闭贮存。

参 考 文 献

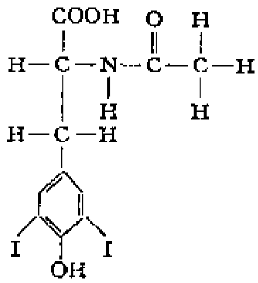
〔1〕 Myers, C. S.: *J. Am. Chem. Soc.*, 54, 3718(1932).

N-乙酰-3,5-二碘-D-酪氨酸 Ⅱ-1(2)-0014

N-Acetyl-3,5-diiodo-D-tyrosine

别名 N-乙酰-D-β-(3,5-二碘-4-羟基)-苯丙氨酸 N-Acetyl-D-3,5-diiodo-4-hydroxy-β-phenyalanine; N-乙酰-D-碘硼氨酸 N-Acetyl-D-iodogorgaic acid

结构式



分子式 $C_{11}H_{11}O_4NI_2$ **分子量** 475.03

理化性质 白色带微黄结晶。

理化参数 熔点198～200℃。$[\alpha]^{20}_{546}$35.54（于乙醇中）。

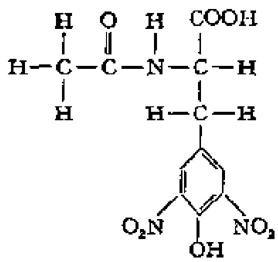
贮存 干燥、避光密闭贮存。

N-乙酰-3,5-二硝基-L-酪氨酸 Ⅱ-1(2)-0015

N-acetyl-3,5-dinitro-L-tyrosine

别名 *N*-乙酰-L-β-(3,5-二硝基-4-羟基)-苯丙氨酸 *N*-Acetyl-L-3, 5-dinitro-4-hydroxy-β-phenylalanine

结构式



分子式 $C_{11}H_{11}N_3O_8$ **分子量** 313.23

理化性质 白色结晶。溶于乙酸乙酯、乙醇；不溶于苯、石油醚。

理化参数 熔点189～190℃。$[\alpha]^{18}_{D}$为+12.2°（于二氧六环中）。

制备方法[1,2] 105 g L-酪氨酸加到450 mL的浓硫酸中，搅拌并冷却到10℃之后，置于-5℃中冷却，搅拌下加入85.5mL硝酸(d=1.42)，至少要1.5小时滴加完毕，溶液在0℃放置15分钟，将此溶液倒入约2kg的碎冰块中，而后加入400g氢氧化钠溶于1L的蒸馏水的溶液中，慢慢地加入，边加边搅拌，加毕后，得黄色结晶137g）。

100g上述3,5-二硝基酪氨酸溶于800mL的2mol/L的氢氧化钠溶液中，加入51.2mL乙酸酐，反应液在低于20℃中搅拌，加毕后继续搅拌一些时候，再在室温中搅拌1小时，加热到40℃搅拌30分钟，用5mol/L的盐酸调pH到刚果红试剂呈蓝色，析出*N*-乙酰-3,5-二硝基-L-酪氨酸，过滤，干燥后得95g。

贮存 干燥避光贮存。

参考文献

[1] Chalmers, J. R. et al: *J. Chem. Soc*, 3424(1949).

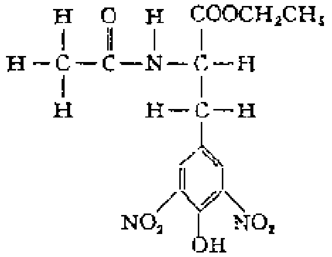
[2] Elks, J. and Waller, G. J.: *J. Chem. Soc.*, 2366(1952).

N-乙酸-3,5-二硝基-L-酪氨酸乙酯 Ⅱ-1(2)-0016

N-Acetyl-3,5-dinitro-L-tyrosine ethyl ester

别名 *N*-乙酰氨基-β-羟基-3,5-二硝基苯丙酸乙酯 *N*-Acetylamino-β-hydroxy-3,5-dinitrophenyl propionate ethyl ester

结构式



分子式 $C_{13}H_{15}N_3O_8$ **分子量** 341.28

理化性质 白色结晶。不溶于石油醚；溶于乙酸乙酯。

理化参数 熔点120～121℃。$[\alpha]_D^{20}-6.75°$（于二氧六环中）。

制备方法[1,2] 32g乙酰氨基-3,5-二硝基-L-酪氨酸和3g对甲基苯磺酸溶于21mL乙醇中，倒入L圆底烧瓶中，加入1L氯仿，回流8小时，反应液冷却后，用1mol/L碳酸钠溶液抽提反应液两次，合并水层抽提液，冷却后用2mol/L盐酸调pH到中性，有棕色油状物产生，待固化后过滤，沉淀用乙酸乙酯溶解，滴加石油醚到乙酸乙酯溶液中，使溶液混浊后，放置结晶，得30g成品。

贮存 干燥、避光密闭贮存。

参考文献

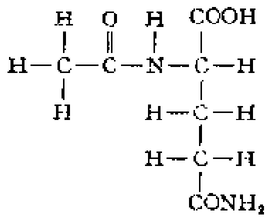
〔1〕 Chalmers, J. R. et al: *J. Chem. Soc.*, 3424(1949).
〔2〕 Elks, J. and Waller, G. J.; *J. Chem. Soc.*, 2366(1952).

N-乙酰-L-谷氨酰胺 Ⅱ-1(2)-0017

N-Acetyl-L-glutamine

别名 *N*-乙酰-L-谷酰胺；L-2-乙酰胺基戊酰氨酸 L-2-Acetamidoglutaramic acid

结构式



分子式 $C_7H_{12}N_2O_2$ **分子量** 188.18

理化性质 白色结晶。溶于水。

理化参数 熔点为203～204℃。$[\alpha]_D^{20}-12°(C=3$，于水中)。

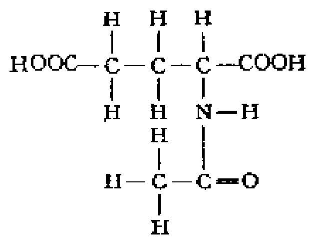
贮存 干燥密闭贮存。

N-乙酰-DL-谷氨酸 Ⅱ-1(2)-0018

N-acetyl-DL-glutamic acid

别名 DL-2-乙酰胺基戊二酸 DL-2-Acetamidoglutaric acid

结构式



分子式 $C_7H_{11}NO_5$ **分子量** 189.17

理化性质 白色结晶。溶于水。

理化参数 熔点为185℃。

制备方法[1] 189.1g的乙酰L-谷氨酸(1mol),溶于2L温热的冰乙酸(化学纯)中,置于圆底烧瓶中,瓶口装置氯化钙干燥管,与外界大气相通,而后加入100mL醋酸酐(1mol),混匀后加热到沸腾,并保持2分钟,冷却到室温后,在50℃真空浓缩除去醋酐,待浓缩至干后,加蒸馏水溶解,真空浓缩至干,反复操作直到有很少乙酸的刺激味,最后一次用少量热水溶解,脱色后滤液冷却,得结晶,几乎全部回收。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

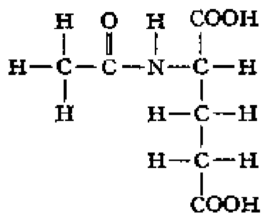
〔1〕 Bergmann, M. and Zervas, L.; *Biochem. Z.* 203, 280(1928).

N-乙酰-L-谷氨酸 Ⅱ-1(2)-0019

N-Acetyl-L-glutamic acid

别名 L-2-乙酰胺基戊二酸 L-2-Acetamidoglutaric acid

结构式



分子式 $C_7H_{11}NO_5$ **分子量** 189.17

理化性质 白色结晶。溶于水。

理化参数 熔点197～199℃。$[\alpha]_D^{25}+3.9°$ ($C=2$, 在1mol/L氢氧化钠溶液中), $[\alpha]_D^{25}-16.6°$ ($C=2$, 于水中)。

制备方法[1] 147.1g L-谷氨酸溶于1L 2mol/L的氢氧化钠溶液中,将此溶液倒入三颈瓶中,装上搅拌器,温度计而后放置到盐冰浴中冷却到5℃,在搅拌下分4次加入总共为600mL的4mol/L的氢氧化钠和120mL乙酸酐,加毕后继续搅拌30分钟,待其反应完全。用550mL的2g mol/L硫酸溶液调pH到中性,在40℃真空浓缩到干,而后用沸腾的乙醇100mL抽提,要抽提4～5次,合并抽提液,真空浓缩至干,再用少量热水溶解固体,冷却后得结晶,重量为100g,产率为64%。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

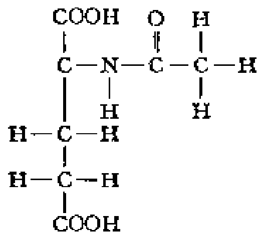
〔1〕 Bergmann, M. and Zervas, L.: *Biochem. Z.*, 203, 280(1928).

N-乙酰-D-谷氨酸 Ⅱ-1(2)-0020

N-Acetyl-D-glutamic acid

别名 D-2-乙酰胺基戊二酸 D-2-Acetamidoglutaric acid

结构式



分子式 $C_7H_{11}NO_5$ **分子量** 189.17

理化性质 白色结晶。溶于水。

理化参数 熔点197～199℃。$[\alpha]_D^{23}+16.6°$($C=2$, 于水中)。

制备方法[1,2] 18.9g乙酰-DL-谷氨酸 (0.1mol)，溶于水中，调pH至7，加入酰化酶Ⅰ，30℃保温，用4mol/L的氢氧化钠不断地调pH，保持pH7，待反应完全后，真空浓缩至干，用少量水溶解，加入乙醇使乙醇溶液浓度为80%，使L-谷氨酸结晶析出，过滤除去，母液重复操作，使L-谷氨酸沉淀完全，母液真空浓缩至干，用热乙醇抽提数次，合并抽提液，真空浓缩至干，用少量热蒸馏水溶解，待冷却后结晶析出，产率60%。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

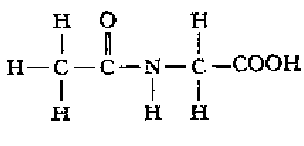
〔1〕 Birnbaum, S. M. et al: *J. Biol. Chem.*, 194, 455(1952).
〔2〕 Levintow, L. et al: *Arch Biochem. Biophys.*, 31, 77(1951).

N-乙酰甘氨酸 Ⅱ-1(2)-0021

N-Acetylglycine

别名 *N*-乙酰胺基乙酸 *N*-Acetamidoacetic acid; Aceturic acid; Acetylaminoacetic acid; Acetylglycocoll

结构式



分子式 $C_4H_7NO_3$ **分子量** 117.11

理化性质 白色结晶。易溶于水和醇；不溶于乙醚和苯。

理化参数 熔点206～208℃。

制备方法 参阅*N*-乙酰丙氨数（Ⅱ-1(2)-0001)的制备方法，其中原料改为甘氨酸即可制得

产品。

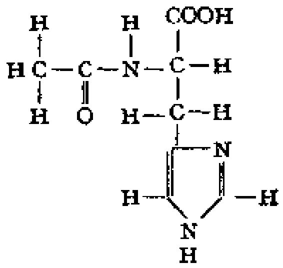
贮存 干燥密闭贮存。

N-乙酰-L-组氨酸 Ⅱ-1(2)-0022

N-Acetyl-L-histidine

别名 N-乙酰-L-组织氨基酸

结构式



分子式 $C_8H_{11}N_3O_3$ **分子量** 197.20

理化性质 白色结晶。溶于热水。结晶常含有1分子结晶水。

理化参数 熔点148℃。$[\alpha]_D+46.5°$（于水中）。

制备方法[1,2] 干燥的L-组氨酸125g和1500mL冰醋酸置于2L的磨口圆底烧瓶中，待固体溶解后，加入醋酸酐165mL，安装回流冷凝管，接氯化钙干燥管，与外界大气相通。加热回流2小时，冷却到室温，真空浓缩至干，加入100mL，水再减压浓缩至干，反复数次减压浓缩，直抽到乙酸气味很少而止，残渣用少量热蒸馏水溶解，脱色后过滤，滤液呈无色，加入3倍体积的丙酮，边加边搅拌，此时已有结晶析出，在5℃冰箱中放置过夜，次日过滤，结晶用70%的丙酮水溶液洗涤1次，依次用丙酮和干乙醚分别洗涤。得产率为80%。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

[1] Bergmann, M.and Zervas, L.; *Biochem. Z.*, 203, 280(1928).

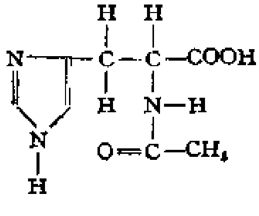
[2] Marshall, R. et al; *J. Am. Chem. Soc.*, 78, 4636(1956).

N-乙酰-DL-组氨酸 Ⅱ-1(2)-0023

N-Acetyl-DL-histidine

别名 N-乙酰-DL-组织氨基酸

结构式



分子式 $C_8H_{11}N_3O_3$ **分子量** 197.20

理化性质 白色结晶。溶于热水。

理化参数 熔点148℃。

制备方法[1] 将L-组氨酸按制备N-乙酰-L-组氨酸的方法制备。操作到真空浓缩至干后，加入100mL冰乙酸和82.5mL乙酸酐，煮沸2分钟，冷却后真空浓缩到干，再加蒸馏水溶解残渣，再减压浓缩至干，反复操作到除去乙酸酐，而后按N-乙酰-L-组氨酸的方法结晶，即可得N-乙酰-DL-组氨酸。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

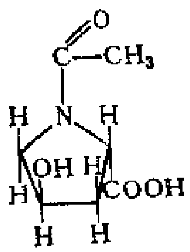
〔1〕 Bergmann, M. and Zervas, L.: *Biochem. Z.*, 203, 280(1928).

N-乙酰-L-羟脯氨酸 Ⅱ-1(2)-0024

N-Acetyl-L-hydroxyproline

别名 *N*-乙酰-4-羟基吡咯烷-2-羧酸 *N*-Acetyl-4-hydroxy pyrrolidine-2-carboxylic acid

结构式



分子式 $C_7H_{11}O_4N$ **分子量** 131.18

理化性质 白色结晶。溶于醇和水；不溶于乙醚。

理化参数 熔点135℃。$[\alpha]_D -118°$（于水中）。

制备方法[1] 131g L-羟脯氨酸(1mol)和1500mL乙酸放到圆底烧瓶中，加热至沸腾，小心加入102g乙酸酐(1mol)，慢慢地冷却到25℃，真空浓缩至黄色薄糖浆状，加入200mL丙酮，过滤溶液，清液冷却到－5℃，并放置过夜得结晶，过滤后用冷丙酮洗涤结晶，用无水乙醇重结晶，得产品144g，产率83%。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

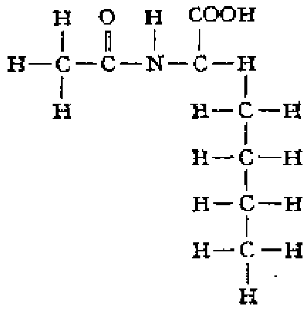
〔1〕 Neuberger, A.: *J. Chem. Soc.*, 429(1945).

N-乙酰-L-白氨酸 Ⅱ-1(2)-0025

N-Acetyl-L-leucine

别名 *N*-乙酰-L-亮氨酸

结构式



分子式 $C_8H_{15}NO_3$ **分子量** 173.21

理化性质 白色结晶。溶于水；不溶于苯。

理化参数 熔点159～160℃。从50%的醋酸中得到的结晶，其熔点为185℃，$[\alpha]_D$ -21.3°（于乙醇中）。

制备方法[1] L-亮氨酸溶于碱性溶液中，低温下加入1.2倍的乙酸酐使乙酰化，用50%的乙酸重结晶，就可得产品。

贮存 干燥密闭贮存。

备注 乙酰-L-异亮氨酸是油状物，可同法制得。

参 考 文 献

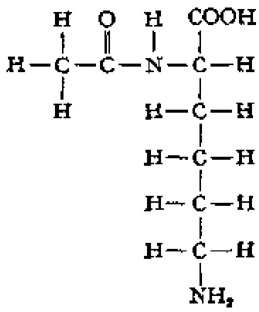
〔1〕 Birnbaum, S. M. et al; *J. Biol. Chem.* 194, 455(1952).

N-乙酰-L-赖氨酸 Ⅱ-1(2)-0026

N-Acetyl-L-lysine

别名 L-2-乙酰氨基-6-氨基己酸

结构式



分子式 $C_8H_{16}N_2O_3$ **分子量** 188.23

理化性质 白色结晶。溶于乙醇和水中；不溶于苯。

理化参数 熔点256～258℃(分解)。

制备方法 参阅鸟氨酸的乙酰化方法（Ⅱ-1(2)-0035）。

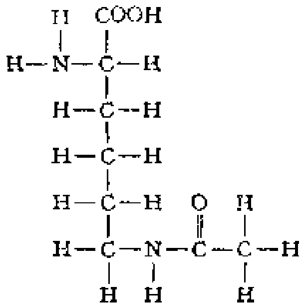
贮存 干燥密闭贮存。

N^{ε}-乙酰-L-赖氨酸 Ⅱ-1(2)-0027

N^{ε}-acetyl-L-lysine

别名 L-6-乙酰氨基-2-氨基己酸

结构式



分子式 $C_8H_{16}N_2O_3$ **分子量** 188.23

理化性质 白色结晶。溶于乙醇和乙酸乙酯。

理化参数 熔点 265℃(分解)。$[\alpha]_D^{20}+22.5°$($C=2$，于5mol/L盐酸溶液中)。

制备方法[1] 用新鲜配制的碳酸铜加到赖氨酸的热溶液中去，制成赖氨酸铜盐，冷却到+5℃，加入等体积的2mol/L氢氧化锂溶液和等体积的醋酸酐，放置30分钟，室温下加入等体积的2mol/L盐酸溶液，通入硫化氢气体，使生成硫化铜沉淀，过滤除去硫化铜，溶液用活性炭脱色，于35℃真空浓缩至干，残渣加入少量蒸馏水，用苯胺调节pH6左右，加入80%的无水乙醇，放置冰箱24小时后得结晶，重结晶1次，产率为60%。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

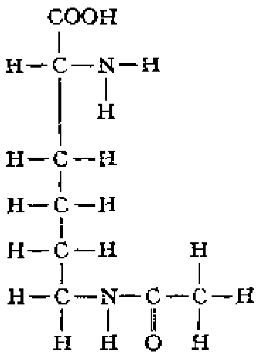
〔1〕 Bergmann, M. et al: *J. Biol. Chem.*, 111, 245(1935).

N^ϵ-乙酰-D-赖氨酸 Ⅱ-1(2)-0028

N^ϵ-Acetyl-D-lysine

别名 D-6-乙酰氨基-2-氨基己酸

结构式



分子式 $C_8H_{16}N_2O_3$ **分子量** 188.23

理化性质 白色结晶。溶于乙醇，乙酸乙酯。

理化参数 熔点为265℃(分解)。$[\alpha]_D^{20}-22°$($C=2$,5mol/L盐酸溶液中)。

制备方法[1] 参阅N^ϵ-乙酰-L-赖氨酸（Ⅱ-1(2)-0027）的制备。

贮存 干燥密闭贮存。

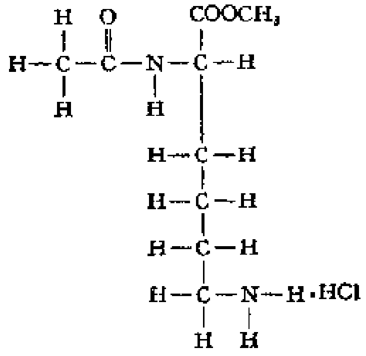
参 考 文 献

〔1〕 Neuberger, A. and Sangh, F.: *Biochem. J.*, 37, 515(1943).

N^{α}-乙酰-L-赖氨酸甲酯盐酸盐　　Ⅱ-1(2)-0029

N^{α}-Acetyl-L-lysine methyl ester hydrochloride

结构式



分子式 $C_9H_{18}N_2O_3\cdot HCl$　　**分子量** 238.72

理化性质 白色结晶。溶于甲醇、乙醇和乙酸乙酯。

理化参数 熔点108～114℃。$[\alpha]_D^{25}-18°$($C=2$, 于6mol/L盐酸中)。

贮存 干燥密闭贮存。

用途[1] 用于玻璃珠为载体的固定化酶蛋白水解酶的底物。

参 考 文 献

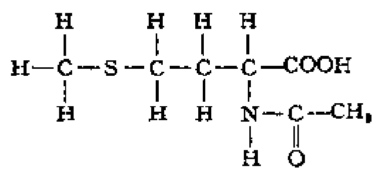
〔1〕 Ford, J. R. et al: *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, 3, 267(1972).

N-乙酰-DL-甲硫氨酸　　Ⅱ-1(2)-0030

N-Acetyl-DL-methionine

别名 N-乙酰-DL-蛋氨酸；乙酰-DL-甲硫氨基丁酸；DL-α-Acetylamino-γ-methylmercaptobutyric acid；DL-1-Acetylamino-3-methylmercaptopropanecarboxylic acid；2-Acetamido-4-(methylthio)butyric acid；DL-2-Acetylamino-4-methylthiobutanoic acid

结构式



分子式 $C_7H_{13}O_3NS$　　**分子量** 191.26

理化性质 白色结晶。溶于水、乙醇和乙酸乙酯。

理化参数 熔点 114～117℃。

制备方法[1] 用有机合成法进行工业生产。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

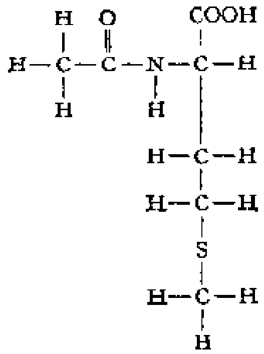
〔1〕 Wheeler, and Ingersoll,: *J. Am. Chem. Soc.* 73, 4604(1951).

N-乙酰-L-甲硫氨酸 Ⅱ-1(2)-0031

N-Acetyl-L-methionine

别名 N-乙酰-L-蛋氨酸

结构式



分子式 $C_7H_{13}O_3NS$ **分子量** 191.26

理化性质 白色结晶。溶于水，乙醇和乙酸乙酯。

理化参数 熔点104～105℃。$[\alpha]_{546}^{20}+24.5$($C=1$，于水中)。

制备方法 在碱性条件下乙酰化，参阅*N*-乙酰-DL-天冬氨酸（Ⅱ-1(2)-0008）的制备。

贮存 干燥密闭保存。

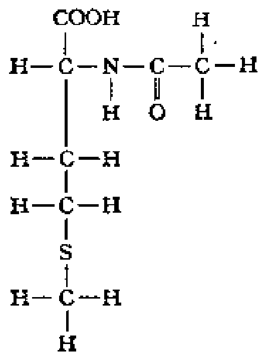
用途 酰化酶Ⅰ的底物；动物细胞培养基的成分之一；抗脂肪肝的药物。

N-乙酰-D-甲硫氨酸 Ⅱ-1(2)-0032

N-Acetyl-D-methionine

别名 N-乙酰-D-蛋氨酸

结构式



分子式 $C_7H_{13}O_3NS$ **分子量** 191.26

理化性质 白色结晶。溶于水、乙醇和乙酸乙酯。

理化参数 熔点为104～105℃。$[\alpha]_D^{25}-20.3$($C=1$，于水中)。

制备方法[1]　19.1g 乙酰-DL-甲硫氨酸溶于1L蒸馏水中，用氢氧化铵调pH至7.2，加入酰化酶反应，可得乙酰-D-甲硫氨酸。参阅N-乙酰-D-谷氨酸（Ⅱ-1(2)-0020)的制备。

贮存　干燥密闭贮存。

参 考 文 献

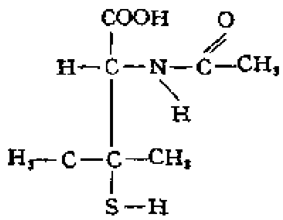
〔1〕 Birnbaum, S. M. et al: *J. Biol. Chem.* 194, 455(1952).

N-乙酰-3-巯基-D-缬氨酸　　Ⅱ-1(2)-0033

N-Acetyl-3-mercapto-D-valine

别名　*N*-Acetylpenicillamine

结构式



分子式　$C_7H_{13}NO_3S$　　**分子量**　191.25

理化性质　白色结晶。溶于水；不溶于石油醚和苯。

理化参数　熔点189～190℃。$[\alpha]_D^{25}$ +18°(50%乙醇)。

制备方法[1]　通过2-烷基-5,5-二甲基-2-噻唑啉-4-羧醚为原料合成 DL-型的化合物，而后通过光学拆分得*N*-乙酰-3-巯基-D-缬氨酸。

贮存　干燥密闭贮存。

备注　DL-型熔点为183℃。

参 考 文 献

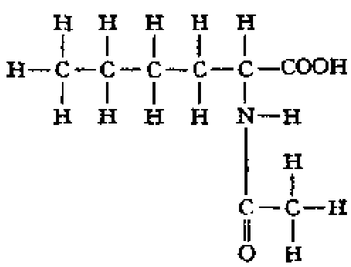
〔1〕 Sheehan, J. C. et al: *U. S. Pats.*, 2, 496, 416(1950).

N-乙酰正白氨酸　　Ⅱ-1(2)-0034

N-Acetyl-norleucine

别名　*N*-乙酰正亮氨酸

结构式



分子式　$C_8H_{15}NO_3$　　**分子量**　173.21

理化性质　白色结晶。溶于乙酸乙酯；不溶于石油醚。

理化参数 熔点105℃。

制备方法 131g正白氨酸加入到10倍量的冰乙酸中加热至沸腾，加入207mL乙酸酐，再沸腾后冷却，减压除去乙酸，重结晶即可得产品。

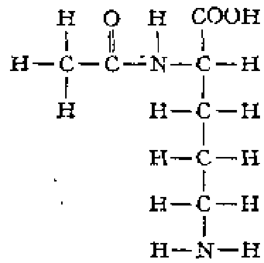
贮存 干燥密闭贮存。

N^{α}-乙酰-L-鸟氨酸 Ⅱ-1(2)-0035

N^{α}-acetyl-L-ornithine

别名 N^{α}-乙酰-L-鸟粪氨基酸；L-2-乙酰氨基-5-氨基戊酸 L-2-Acetylamino-5-aminopentanoic acid

结构式



分子式 $C_7H_{14}N_2O_3$ **分子量** 174.13

理化性质 白色结晶。溶于水；不溶于乙醇。

理化参数 $[\alpha]_D -7.5°$(C=2，于5mol/L盐酸溶液中)。

制备方法[1] 在弱碱性溶液中制成铜盐溶液〔参阅N^{ϵ}-乙酰-L-赖氨酸（Ⅱ-1(2)-0027）制备方法〕，加入苄氧羰酰氯，生成N^{δ}-cbz-N^{α}-鸟氨酸铜盐，用硫化氢除去铜盐，在碱性溶液中乙酰化，可得N^{δ}-苄氧羰基-N^{α}-乙酰鸟氨酸，该化合物为油状物，活性炭脱色后过滤，滤液用无水硫酸钠干燥，过滤除去干燥剂后，浓缩至干，油状物溶于无水甲醇后，加入钯黑催化氢化，除去甲醇，在水-乙醇中结晶，产率50%。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

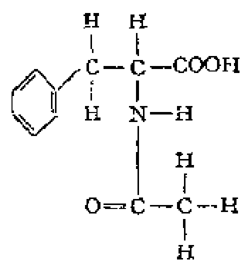
〔1〕 Greenstein, J. P. et al: *Arch Biochem. Biophys.*, 64, 342(1956).

N-乙酰-DL-苯丙氨酸 Ⅱ-1(2)-0036

N-Acetyl-DL-phenylalamine

别名 N-乙酰胺基苯丙酸；N-乙酰-DL-α-氨基氢化肉桂酸 N-Acetyl-DL-a-amino-hydrocinnamic acid; N-Acetyl-a-amino-β-phenylpropionic acid; N-Acetyl-DL-β-phenylalanine

结构式



分子式 $C_{11}H_{13}NO_3$ **分子量** 204.24

理化性质 白色结晶。溶于乙醇、乙酸乙酯和水。

理化参数 熔点146～152℃。

制备方法[1] 用DL-苯丙氨酸做原料，按N-乙酰-DL-丙氨酸（Ⅱ-1(2)-0001）法合成。

贮存 干燥密闭贮存。

参考文献

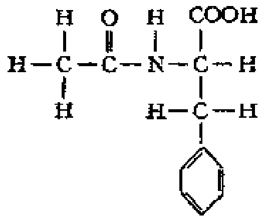
〔1〕 Greenstein J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", vol. 3, N. Y. Wiley, 2173, 1961.

N-乙酰-L-苯丙氨酸 Ⅱ-1(2)-0037

N-Acetyl-L-phenylalanine

别名 N-乙酰胺基苯丙酸；N-乙酰-L-α-氨基氢化肉桂酸 N-Acetyl-L-α-aminohydrocinnamic acid; N-Acetyl-α-amino-β-phenylpropionic acid; N-Acetyl-L-β-phenylalanine

结构式



分子式 $C_{11}H_{13}NO_3$ **分子量** 204.24

理化性质 白色结晶。溶于乙醇、乙酸乙酯和水。

理化参数 熔点为171℃。$[\alpha]_D+40.3°$（于甲醇中）。$[\alpha]_D+51°$（于乙醇中）。

制备方法[1] 参阅N-乙酰-DL-丙氨酸（Ⅱ-1(2)-0001）的章节。

贮存 干燥密闭贮存。

参考文献

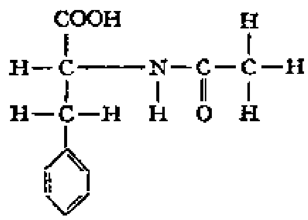
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", vol. 3, N. Y. Wiley, 2173, 1961.

N-乙酰-D-苯丙氨酸 Ⅱ-1(2)-0038

N-Acetyl-D-phenylalanine

别名 N-乙酰胺基苯丙酸；N-乙酰-D-α-氨基氢化肉桂酸 N-Acetyl-D-α-aminohydrocinnamic acid; N-Acetyl-α-amino-β-phenylpropionic acid; N-Acetyl-D-β-phenylalanine

结构式



分子式 $C_{11}H_{13}NO_3$ **分子量** 204.24

理化性质 白色结晶。溶于乙醇、乙酸乙酯和水。

理化参数 熔点为171℃。$[\alpha]_D -43.3°$(于甲醇中)。

制备方法 以乙酰-DL-丙氨酸为原料，经酰化酶拆分，使乙酰-L-苯丙氨酸的乙酰基水解，结晶除去，溶液中剩下乙酰-D-苯丙氨酸，可结晶取得。参阅D-丙氨酸（Ⅱ-1(1)-00037）的制备。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

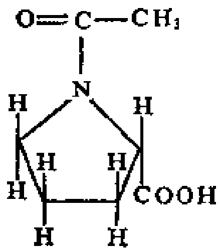
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", vol. 3, N. Y. Wiley, 2173, 1961.

N-乙酰-DL-脯氨酸 Ⅱ-1(2)-0039

N-Acetyl-DL-proline

别名 乙酰氢化吡咯甲酸

结构式



分子式 $C_7H_{11}NO_3$ **分子量** 157.18

理化性质 白色结晶。溶于丙酮。

理化参数 熔点为106℃。

制备方法[1] 115.1gL-脯氨酸溶于1500mL冰乙酸中煮沸，稍冷却后，加入250mL乙酸酐，再煮沸，除去溶剂后即得产品，产率60%。

贮存 干燥、避光密闭保存。

参 考 文 献

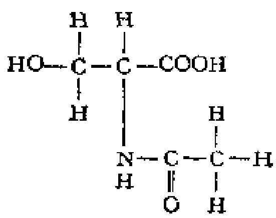
〔1〕 Price, V. E. et al: *Arch Biochem.*, 26, 92(1950).

N-乙酰-DL-丝氨酸 Ⅱ-1(2)-0040

N-Acetyl-DL-serine

别名 DL-2-乙酰氨基-3-羟基丙酸 DL-2-Acetyl amino-3-hydroxydroxypropionic acid

结构式



分子式 $C_5H_7NO_4$ **分子量** 147.14

理化性质 白色结晶。溶于水；不溶于丙酮。

理化参数 熔点131～132℃。

制备方法[1] 500 g DL-丝氨酸溶于 2500 mL 蒸馏水中，此溶液冷却到 +5℃ 以下，在振荡下加入总共为1200mL的乙酸酐，每次加入100mL，共分12次加入，在30分钟内加毕，再振荡数小时后，用Van Slyke方法测定其反应完全程度，约有70 g 丝氨酸不能作用，将该反应液用真空浓缩至小体积，再加入3 L 蒸馏水，反复真空浓缩除去乙酸酐和乙酸，最后加入约2 L 蒸馏水，冷却到5℃以下，再加入300mL乙酸酐，每次100mL，同上法处理，最后剩下约7 g 未反应的丝氨酸。将此反应液用上相同方法除去乙酸酐和乙酸，残渣加入1 L 蒸馏水溶解，而后加入200mL冰乙酸和90 g 硝酸钠，搅拌下反应数小时，减压浓缩除去乙酸，反复多次，最后配制成3 L 体积的溶液，上阳离子交换柱，柱为50×5cm，树脂的交链度为8的强阳离子，收集含有乙酰丝氨酸的溶液，脱色后真空浓缩至小体积，成为油状物时能迅速结晶，放置冰箱过夜，次日过滤得结晶214 g，产率31%。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

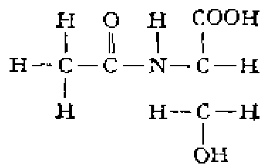
〔1〕 Akabori, S. et al: *Arch Biochem. Biophys.*, 83, 1(1959).

N-乙酰-L-丝氨酸 Ⅱ-1(2)-0041

N-Acetyl-L-serine

别名 L-2-乙酰氨基-3-羟基丙酸 L-2-Acetyl amino-3-hydroxypropionic acid

结构式



分子式 $C_5H_7NO_4$ **分子量** 147.14

理化性质 白色结晶。溶于水；不溶于丙酮。

理化参数 熔点 123～124 ℃。$[\alpha]_D^{24}$ −2.1°(C=2, 于水中)。$[\alpha]_D^{24}$，14.8°(C=2, 于乙醇中)。

制备方法[1] 以L-丝氨酸为原料，在碱性溶液中与醋酸酐进行反应，反应后调pH 4.8，浓缩成小体积，而后上强阳离子柱，收集含有乙酰L-丝氨酸的部分，真空浓缩，重结晶得产品。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

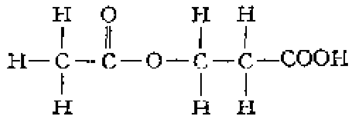
〔1〕 Akabori, s. et al: *Arch Biochem. Biophys.*, 83, 1(1959).

O-乙酰-DL-丝氨酸

Ⅱ-1(2)-0042

O-Acetyl-DL-serine

结构式



分子式 $C_5H_7NO_4$ **分子量** 147.14

理化性质 白色结晶。溶于水；不溶于醚。

理化参数 熔点144℃(分解)。

制备方法[1,2] 用4.99g 60.4%过氯醚和2.52g98.7%的乙酸酐以100%乙酸稀释到50 mL，以此溶液溶解2.5gDL-丝氨酸，冷却到0℃，加入12g98.7%乙酸酐，1.5小时后加入1mL水，混匀后放置一些时间，再加入3.48g戊胺，然后再加入300mL乙醚，得沉淀3.1g，产率91%。

提纯方法 重结晶时可在50%的乙醇水溶液中进行。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

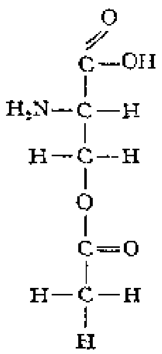
〔1〕 Frankel, M. et al: *J. Chem. Soc.* 1991(1953).
〔2〕 Sakami, W. and Toennies, G.: *J. Biol Chem.* 144, 203(1942).

O-乙酰-L-丝氨酸

Ⅱ-1(2)-0043

O-Acetyl-L-serine

结构式



分子式 $C_5H_7NO_4$ **分子量** 147.14

理化性质 白色结晶。溶于水；不溶于乙醚。

理化参数 从乙醇-乙醚中结晶的，熔点160℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}-7.4°$(C=2.2于乙醇中)。从水-乙醇中结晶的，熔点167～168℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}=+9.2°$(C=1.8，于0.1mol/L盐酸溶液中)。

制备方法[1] 3.5g L-丝氨酸在150mL冰乙酸中，于0℃通入氯化氢气体至饱和，反应液放置15小时于室温中，而后减压浓缩除去溶剂；重复通一次氯化氢的操作，再反复减压浓缩的

操作除去氯化氢和乙酸，即可得粗产品。用乙醇-乙醚重结晶，得5.2g *O*-乙酰-L-丝氨酸盐酸盐，产率99%。

将3g盐酸盐的产品溶于乙醇中，加入三乙胺1.62g，得白色沉淀。为除去盐酸盐，在水-乙醇中重结晶，得2.42g成品，产率98%。

贮存 干燥密闭贮存。

备注 *O*-乙酰-L-苏氨酸可同法制备。

参 考 文 献

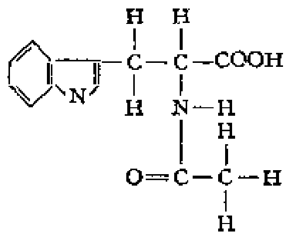
〔1〕 Sheehan, J. C. et al.; *J. Am. Chem. Soc.*, 78, 1367 (1956).

N-乙酰-DL-色氨酸 Ⅱ-1(2)-0044

N-Acetyl-DL-tryptophen

别名 DL-α-N-乙酰胺基-β-吲哚丙酸；DL-α-Acetamido-indol-3-propionic acid；DL-α-Acetamidoindol-3-propionic acid

结构式



分子式 $C_{13}H_{14}N_2O_3$ **分子量** 246.27

理化性质 白色片状结晶。溶于水和乙醇。

理化参数 熔点204～205℃。

制备方法 可用有机合成法[1]，用吲哚作原料。实验室中可用消旋法制得[2]，将10g L-或D-色氨酸溶于100mL 1mol/L的氢氧化钠中，30mL乙酸酐分6次加入，每加入1g振荡数分钟，加毕在35～40℃放置3小时，待结晶形成后，放置冰箱过夜，次日过滤，结晶用冷水洗涤后，转移到0.2mol/L的盐酸溶液中等待一些时间，过滤，结晶用冷水洗涤到没有氯离子。产率约70%。

在水中重结晶的产品，熔点为205～206℃分解。

贮存 避光，干燥密闭贮存。

参 考 文 献

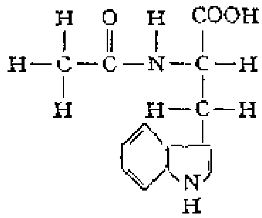
〔1〕 Snyder, H. R. and Smith, C. W.; *J. Am. Chem. Soc.*, 66, 350 (1944).
〔2〕 du Vigneaud, V. and Sealock, R. R.; *J. Biol Chem.*, 96, 511 (1932).

N-乙酰-L-色氨酸 Ⅱ-1(2)-0045

N-Acetyl-L-tryptophen

别名 L-α-N-乙酰胺基-β-吲哚丙酸；L-α-N-Acetylamino-B-indolypropionic acid；L-α-Acetamidoindol-3-propionic acid

结构式



分子式 $C_{13}H_{14}N_2O_3$ **分子量** 246.27

理化性质 白色片状结晶。溶于水和乙醇。

理化参数 熔点189～190℃。$[\alpha]_D+30°$（于1mol/L氢氧化钠溶液中）。

制备方法[1] L-色氨酸（1mol）溶于1L的1mol/L氢氧化钠溶液中，稍待片刻后，再加入102g乙酸酐和1000mL 1mol/L的氢氧化钠溶液，在1小时内轮流加入，反应液在室温放置1小时，用浓盐酸调至pH3，有产物沉淀出来，待沉淀完全后，过滤，用冷水洗涤沉淀，在50%乙醇中重结晶，产率80%。

贮存 避光、干燥密闭贮存。

参考文献

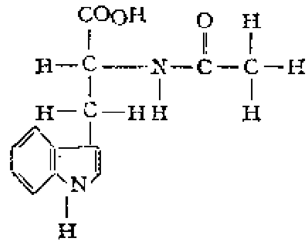
〔1〕 Warnell, J. L. and Berg, C. C.: *J. Am. Chem. Soc.*, 76, 1708(1954).

N-乙酰-D-色氨酸 Ⅱ-1(2)-0046

N-Acetyl-D-tryptophan

别名 D-α-*N*-乙酰胺基-β-吲哚丙酸 D-α-*N*-Acetylamino-β-indolypropionic acid; D-α-Acetamidoindol-3-propionic acid

结构式



分子式 $C_{13}H_{14}N_2O_3$ **分子量** 246.27

理化性质 白色片状结晶。溶于水、乙醇。

理化参数 熔点189～191℃。$[\alpha]_D-30°$（于1mol/L氢氧化钠溶液中）。$[\alpha]_D-26.1°$（于甲醇中）。

制备方法[1] 24.6g乙酰-DL-色氨酸溶于1L蒸馏水中，用浓氢氧化铵调pH至7.5，加入酰化酶，38℃保温12小时，待反应完全后调pH至5，加活性炭脱色，过滤后滤液减压浓缩成小体积，加入无水乙醇，使溶液成80%乙醇溶液，L-色氨酸形成沉淀，过滤除去，母液再减压浓缩成更小体积，重复沉淀1次，滤液调pH至1.7得沉淀为产品，产率为90%。

贮存 避光，干燥密闭贮存。

参 考 文 献

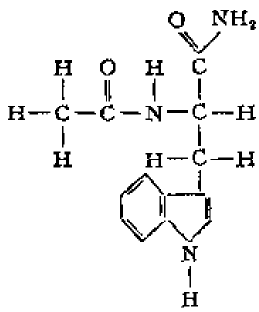
〔1〕 Greenstein J. P. and Winitz, M.: "Chemistry of the Amino Acids", Vol. 3, N. Y. Wiley, 2343, 1961.

N-乙酰-L-色氨酰胺　　Ⅱ-1(2)-0047

N-Acetyl-L-tryptophanamide

别名　L-乙酰胺基吲哚-3-丙酰胺L-Acetamidoindol-3-propionamide

结构式



分子式　$C_{13}H_{15}N_3O_2$　　**分子量**　245.28

理化性质　白色结晶。溶于甲醇。

理化参数　熔点为190～192℃。$[\alpha]_D^{24}$+20°(C=1，于甲醇中)。

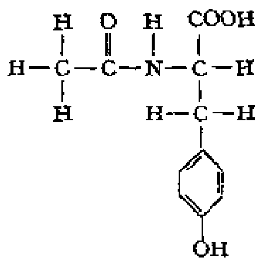
贮存　避光，干燥密闭贮存。

N-乙酰-L-酪氨酸　　Ⅱ-1(2)-0048

N-Acetyl-L-tyrosine

别名　N-乙酰-L-对羟基苯丙氨酸　N-Acetyl-L-p-hydroxyphenylalanine

结构式



分子式　$C_{11}H_{13}NO_4$　　**分子量**　223.24

理化性质　白色结晶。溶于水。

理化参数　熔点为153℃。$[\alpha]_D$+48.3°（于水中）。

制备方法[1]　O, N-二酰基酪氨酸溶于2mol/L氢氧化钠溶液中，冷却，待完全溶解后，室温放置1小时，用1mol/L硫酸溶液中和，减压浓缩至干，残渣用热丙酮抽提数次，合并丙酮液，减压浓缩除去丙酮，加入少量水，待结晶析出，置冰箱过夜，即可得产品。

贮存　干燥密闭贮存。

参 考 文 献

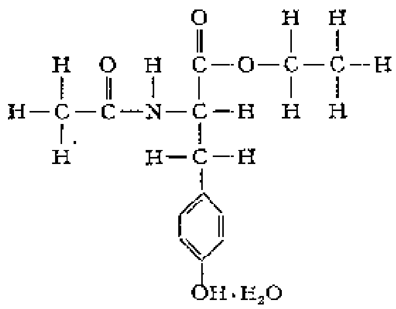
〔1〕 Vigneaud, V. and Meyer, C. E.: *J. Biol. Chem.* 98, 295(1932).

N-乙酰-L-酪氨酰乙酯 Ⅱ-1(2)-0049

N-Acetyl-L-tyrosine ethyl ester

别名 N-乙酰-L-3-(对羟基苯)丙氨酸乙酯；ATEE

结构式



分子式 $C_{13}H_{17}NO_4 \cdot H_2O$ **分子量** 251.28

(含有结晶水的分子量为269.30)

理化性质 白色结晶。含有1分子结晶水，溶于醇中。

理化参数 熔点为84～87℃。$[\alpha]_D+24°$（于乙醇中）。

制备方法[1] 乙酰-L-酪氨酸在无水乙醇中通干燥氯化氢即可制得产品。

贮存 干燥密闭贮存。

用途 常用于胰凝乳蛋白酶的活力测定。

参 考 文 献

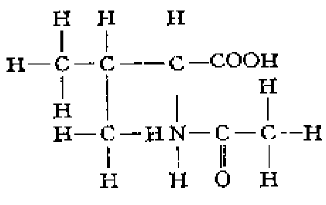
〔1〕 Barneo, J. H. et al: *J. Chem. Soc.*, 1448(1953).

N-乙酰-DL-缬氨酸 Ⅱ-1(2)-0050

N-Acetyl-DL-valine

别名 α-乙酰胺基异戊酸 α-Acetylamino-isovaleric acid；N-乙酰-DL-穿心排草氨基酸

结构式



分子式 $C_7H_{13}NO_3$ **分子量** 159.17

理化性质 白色结晶。

理化参数 熔点148℃。

制备方法[1] 117.1 g DL-缬氨酸，110 mL冰乙酸和150 mL乙酸酐，以N-乙酰-DL-丙氨酸(Ⅱ-1(2)-0001)制备法即可。产率80%。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

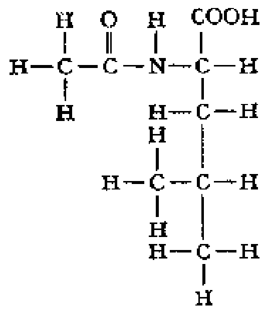
〔1〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.:"Chemistry of the Amino Acids", Vol, 3, N. Y. Wiley, 2375, 1961.

N-乙酰-L-缬氨酸 Ⅱ-1(2)-0051

N-Acetyl-L-valine

别名 L-α-乙酰氨基异戊酸L-α-Acetylamino isovalericacid；*N*-乙酰-L-穿心排草氨基酸

结构式



分子式 $C_7H_{12}O_3N$ **分子量** 159.17

理化性质 白色结晶。

理化参数 熔点168℃。$[\alpha]_D+7.5°$（于冰乙酸中）。

制备方法 同DL-型（Ⅱ-1(2)-0044)的制备。

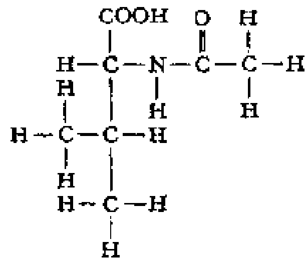
贮存 干燥密闭贮存。

N-乙酰-D-缬氨酸 Ⅱ-1(2)-0052

N-Acetyl-D-valine

别名 D-α-乙酰氨基异戊酸 D-α-Acetylaminoisovaleric acid；*N*-乙酰-D-穿心排草氨基酸

结构式



分子式 $C_7H_{12}NO_3$ **分子量** 159.17

理化性质 白色结晶。

理化参数 熔点168℃。$[\alpha]_D-7.5°$（于冰乙酸中）。

制备方法[1] 15.9g乙酰-DL-缬氨酸悬浮于800 mL水中，用25% NH_4OH 调pH到7.0～7.2，而后将此溶液稀释到1L，加入酰化酶Ⅰ，搅拌下38℃保温24小时，按*N*-乙酰-D-丙氨酸(Ⅱ-1(2)-0003)法操作即可制得产品，产率63～85%。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

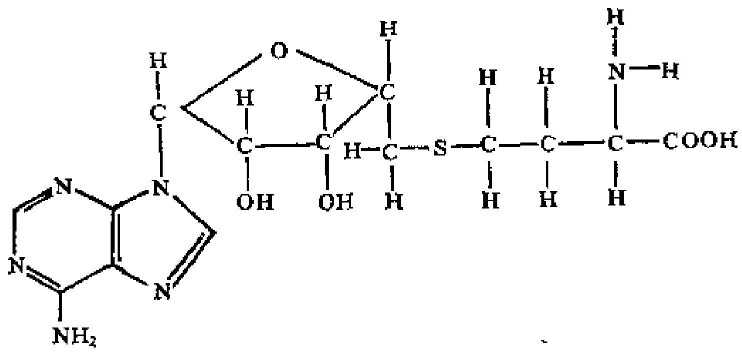
〔1〕 Birnbaum, S. M. et al; *J. Biol. Chem*. 194,455(1952).

S-腺苷-*L*-高半胱氨酸 Ⅱ-1(2)-0053

S-Adenosylhomocysteine

别名 S-(5′-脱氧腺苷-5′)-高半胱氨酸S-(5′-Deoxyadenosine-5′)-homocysteine

结构式



分子式 $C_{14}H_{20}N_6O_5S$ **分子量** 384.4

理化性质 从水中得到的L-型结晶是簇状针状结晶。溶于热水；微溶于冷水和乙醇中；极少量溶于乙醚中。

理化参数 熔点210℃。$[\alpha]_D^{25}+37°$（$C=1.3$于0.1 mol/L硫酸溶液），$[\alpha]_D^{25}+39°$（$C=1$于0.2mol/L硫酸溶液）；$[\alpha]_D^{25}+44°$（$C=1$，于0.05mol/L盐酸溶液）。

制备方法[1] 100 mL的三颈瓶，中间瓶口装一搅拌器，一边颈接导气管，可使氨气经氢氧化钠干燥管导入，另一边颈接一排气管，管通入酸液中，以吸收逸出的氨气。三颈瓶置于干冰乙醇中冷却，同时通入氨气，待氨气凝结成液氨65mL于三颈瓶中，打开导气管口，换接氮气，同时从此管口加入2.5g *S*-苄基-L-高半胱氨酸后，接上通氮导气管，缓缓通入氮气，同时搅拌溶解样品，待溶解完毕后，再打开导气管加入0.53g切细的金属钠，金属钠逐渐加入，直到溶液的蓝色消失需要15分钟，即可停止加入。而后加入6.2g对甲基苯磺酰异丙叉腺苷（Toluenesulfonyl isopropylideneadenosine），搅拌下使样品溶解，而后撤除冷却装置，在边搅拌边反应下氨液逐渐蒸发，大约在4小时之后蒸发完毕。在除去最后的痕迹量液氨之后，加入40mL水和1mL 0.5mol/L的EDTA钾盐，溶液用0.25mol/L的硫酸调pH至酚变黄色，过滤，滤液在4℃放置过夜，次日结晶过滤，用水洗涤结晶，在五氧化磷干燥器中干燥得2.7～2.9g中间体，熔点218～221℃上述中间体溶于15mL的0.5mol/L的硫酸中，在25℃放置50小时，加入40mL含有24g的硫酸钡8结晶水的溶液，溶液pH用同浓度的硫酸调接到酚红变黄，溶液离心除去沉淀，将沉淀洗1次，合并溶液，加入1mL 0.5mol/L的EDTA钾盐溶液（pH7），4℃过夜，结晶过滤，用50mL热水重结晶，过滤干燥得1.7～1.8g成品。

贮存 低于0℃。

备注 从乙醇中得到的DL-型结晶是小的棱柱状。

参考文献

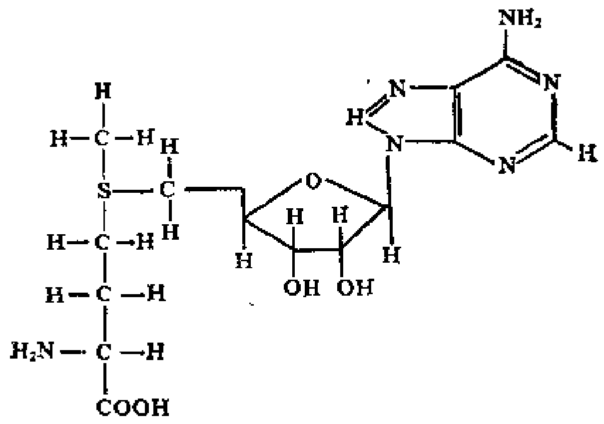
〔1〕 Meister, A.:"Biochem, Preps". Vol. 8,8,N. Y. John Wiley & Sons, 1961.

S-腺苷甲硫氨酸盐酸盐　Ⅱ-1(2)-0054

S-Adenosyl-methionine chloride

别名　活性甲硫氨酸　Active methionine; S-(5′-脱氧腺苷-5′)-甲硫氨酸盐酸盐　S-(5′-deoxyadenosine-5′)-methionine chloride

结构式



分子式　$C_{15}H_{23}N_6O_5SCl$　**分子量**　434.76

理化性质　固体结晶。溶于热水中；微溶于冷水和乙醇，极少量的溶于乙醚。

理化参数　熔点118°～122℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}$+48.5(C=1.8于5mol/L盐酸溶液中)。紫外吸收峰值305nm，ε=15000。

制备方法[1]

1. 酶的制备　兔肝加入2.5倍水冷的0.01mol/L的乙酸，用组织捣碎机制成匀浆，而后在高速冷冻离心机中15000×g离心30分钟，取清液，缓缓加入饱和硫酸铵，每100mL清液加入56mL饱和硫酸铵，边加边轻轻搅拌，加毕稍待片刻，于高速冷冻离心机中12000×g离心10分钟，取清液，缓缓加入饱和硫酸铵，每100mL清液加入36mL，稍待片刻，冷冻高速离心机离心，取沉淀，此沉淀即为酶，可在－20℃将沉淀保存数周。以上整个操作步骤要在低于2℃下操作。

用冰冻的磷酸钾缓冲液透析除去硫酸铵盐，缓冲液为0.1mol/L，pH6.7。透析液4小时/次，换2次，每次透析液是100倍于样品溶液，最后一次用pH7.6的缓冲液(以0.1mol/L氢氧化钾溶液调整）透析。操作于2℃以下进行。

2. S-腺苷甲硫氨酸的合成　将1500μmol的腺苷三磷酸，40mmol的氯化镁，30mmol的三羟甲基氨基甲醇（Tris)，调pH到7.6，150mg的谷光甘肽和3000μmol的L-甲硫氨酸混合，最终体积为60mL，pH7.5～7.6，加入25mL酶液混匀后在37℃保温，需要时加入2mol/L的氢氧化钾数滴调pH到7.5～7.6。用紫外分光光度法测定反应完全程度。反应2～3小时后基本完全，用6%过氯酸等体积的加入反应液，而后在2℃离心，沉淀用冷的2%过氯酸洗涤1次，用2倍体积的1%四硫氰基二胺-铬酸氨（Ammomium reineckate）溶解，再加入2%的过

氯酸结晶，在2℃过夜，次日过滤，用冰冻的水洗2次，真空干燥，保持在2℃，得率为1.0～3.5g。可在甲乙酮中重结晶。

贮存 0℃避光保存。

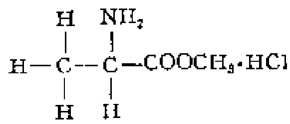
参 考 文 献

〔1〕 Shemin, D.:"Biochem. Preps". Vol. 5, 58, N. Y. John Wiley & Sons, 1957.

L-丙氨酸甲酯盐酸盐 Ⅱ-1(2)-0055

L-Alanine methyl ester hydrochloride

结构式



分子式 $C_4H_9NO_2 \cdot HCl$ **分子量** 139.58

理化性质 白色结晶。溶于水和甲醇等极性溶剂中，不溶于乙醚等非极性溶剂中。

理化参数 熔点107～109℃。$[\alpha]^{20}_{546}+10°$($C=10$，于甲醇溶液中)。

制备方法[1] 将20g L-丙氨酸悬浮于无水甲醇中，通入干燥氯化氢，使丙氨酸逐渐溶解，至氯化氢气体饱和后过夜，次日减压抽去含氯化氢的甲醇溶剂，再加入100mL无水甲醇，重新通氯化氢至饱和，放置片刻，再减压抽去甲醇，又加入甲醇使糖浆状物质溶解，又减压抽去甲醇，反复多次加入和抽去甲醇，以除去氯化氢，当无氯化氢气体的刺激味后，以少量无水甲醇使固体溶解，加入干乙醚放置，令其结晶，倾去乙醚，过滤尽量抽去溶剂得固体26.5g。

贮存 干燥密闭贮存。

备注 L-丙氨酸乙酯盐酸盐的理化参数，其熔点83～85℃。$[\alpha]^{20}_{546}+38°$($C=2.5$于水中)。

参 考 文 献

〔1〕 Goldschundt, S. and Gupta, K. K.: *Cheme. Ber.* 98, 2831(1956).

α-氨基丁酸甲酯盐酸盐 Ⅱ-1(2)-0056

α-Amino-*n*-butyric acid methyl ester hydrochloride

别名 Butyrine methyl ester hydrochloride

结构式 $[CH_3CH_2 \cdot CH(NH_2)COOCH_3] \cdot HCl$

分子式 $C_5H_{11}NO_2 \cdot HCl$ **分子量** 153.61

理化性质 白色结晶。溶于甲醇、乙醇；不溶于乙醚。

制备方法

$$CH_3CH_2CH(NH_2)COOH + CH_3OH \xrightarrow[\text{干燥}]{HCl} CH_3CH_2CH(NH_2)COOCH_3$$

参阅L-丙氨酸甲酯盐醚盐(Ⅱ-1(2)-0055)。

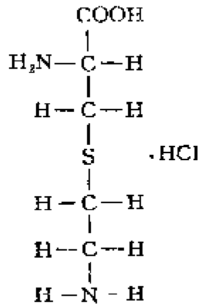
贮存 干燥密闭贮存。

备注 *α*-氨基丁酸乙酯的熔点为127℃。

S-氨乙基-L-半胱氨酸盐酸盐　　Ⅱ-1(2)-0057

S-Aminoethyl-L-cysteine hydrochloride

结构式



分子式　$C_5H_{12}N_2O_2S \cdot HCl$　　**分子量**　200.69

（非盐酸盐为164.23）

理化性质　白色结晶。溶于水。

理化参数　$[\alpha]_D + 7.2$（于水中）。

制备方法[1]

$NH_2CH_2CHBr + HSCH_2CH(NH_2)CO_2H$

$\xrightarrow[NaOH]{碱性溶液} NH_2CH_2CH_2SCH_2CH(NH_2)CO_2H + NaBr + H_2O$

贮存　干燥密闭贮存。

参 考 文 献

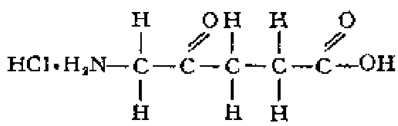
〔1〕 Tanaka, M. et al: *Biochem.* 5, 1966(1966).

S-氨基-γ-酮戊酸盐酸盐　　Ⅱ-1(2)-0058

S-Aminolaevulinic acid hydrochloride

别名　5-氨基酮戊酸盐酸盐　5-Aminolevulinic acid hydrochloride, ALA

结构式



分子式　$C_5H_9NO_3 \cdot HCl$　　**分子量**　167.59

理化性质　白色结晶。溶于水及乙醇中；微溶于乙酸乙酯中。

理化参数　熔点156～158℃（分解）。pK_a^{25} 4.05, 8.90。$\lambda_{最大}$ 266.5 nm，ε为23.0,

$$\varepsilon_{552}nm = 6.84 \times 10^4 \quad \frac{O.D_{525}nm}{O.D_{552}nm} = 0.67。$$

制备方法[1]

1. 顺式和反式的2-苯甲酰胺甲基-2,5-二甲氧基四氢呋喃（Ⅰ）的合成　56.5g *N*-苯甲

酰胺甲基呋溶于1.5L热甲醇中，加入干燥的乙酸钾50g溶于200mL甲醇中，冷却到30～35℃；而后加入12.5mL冷却的溴，滴加1.5小时，同时搅拌，加毕后继续搅拌1.5小时，而后减压浓缩到700mL，溴化钾过滤除去，清液在二氧化铂的催化下加氢5L(0°和101,325Pa)，催化反应完毕后，除去溶剂，在35℃减压浓缩到干。残渣用少量冷水溶解，过滤，滤液在氢氧化钾的干燥器中减压蒸发至干，得60～66g(Ⅰ)。

2．5-苯甲酰胺戊酸(Ⅱ)的合成　24g三氧化铬溶于120mL水中加入浓硫酸18mL，而后在搅拌下加入15g上述（Ⅰ）的产物于160mL丙酮之中，反应温度在16～20℃之间，约需2小时加毕。而后在同温度继续搅拌2小时，用100～150mL水稀释，减压浓缩除去丙酮，沉淀过滤，用冷水洗去铬离子，溶液用苯和乙醚（等体积）的抽提几次，合并有机层，真空浓缩至溶剂除去，油状残渣溶于十分少量的甲醇中，在冷却中得到结晶，重结晶可用甲醇-水或丙酮-水，得40～45g产品（Ⅱ），产率为61～69%。白色结晶，熔点为162～164℃。

3．δ氨基-γ-酮戊酸盐酸盐(Ⅲ)的合成　将（Ⅱ）在6mol/L的盐酸20～30倍于溶质中回流6小时，冷却后产生的沉淀过滤除去，用水稀释滤液，而后用乙酸乙酯抽提4次，水层在40℃减压浓缩至干，用无水乙醇溶解，再加入干乙醚产生沉淀，过滤干燥得产品（Ⅲ），产率91%。

贮存　干燥密闭贮存。

参　考　文　献

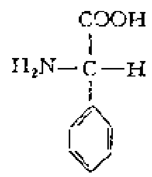
〔1〕 Brown, C. B.: Biochem. Preps". Vol. 10, 6, N. Y. John Wiley & Sons, 1963.

L-α-氨基苯乙酸　　Ⅱ-1(2)-0059

L-α-Amino phenylacetic acide

别名　D(－)-α-苯基甘氨酸　D(－)-α-phenylglycine

结构式



分子式　$C_8H_9NO_2$　　**分子量**　151.17

理化性质　从稀乙醇中得到的结晶为针状。

理化参数　熔点300～305℃。$[\alpha]_{540}^{20}$ -185°(C=1，于1mol/L盐酸溶液中)。

制备方法[1]　通过α-氨基苯乙腈于稀盐酸中水解而得。

$$C_6H_5CHO + NaCN + NH_4Cl \xrightarrow{\text{室温}} C_6H_5(NH_2)CN + NaCl + H_2O$$

$$C_6H_5CH(NH_2)CN + 2H_2O + 2HCl \xrightarrow{\text{回流}} C_6H_5CH(NH_2 \cdot HCl)CO_2H + NH_4Cl$$

$$C_6H_5CH(NH_2 \cdot HCl)CO_2H + NH_3 \longrightarrow C_6H_5CH(NH_2)CO_2H + NH_4Cl$$

贮存　干燥密闭贮存。

参　考　文　献

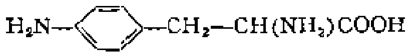
〔1〕 Smith, L. I. "Org. Syn, "Vol. 22, 23, N. Y. Wiley, 1942.

4-氨基-DL-苯丙氨酸 Ⅱ-1(2)-0060

4-Amino-DL-phenylalanine

别名 对氨基-DL-苯丙氨酸 *p*-Amino-DL-phenylalanine

结构式



分子式 $C_9H_{12}N_2O_2$ **分子量** 180.21

理化性质 白色结晶。结晶中常含有若干结晶水。溶于水。

理化参数 熔点132℃；盐酸盐熔点216～222℃。

制备方法[1,2] 通过对硝基苯丙氨酸催化氢化制得。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

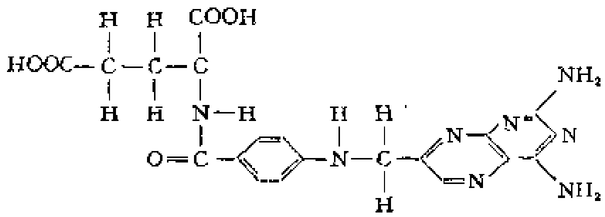
〔1〕 Burr, J. C.; *J. Am. Chem. Soc.*, 73, 3502(1951).
〔2〕 Burckhalter, J. H. and Stepheno, V. C.; *J. Am. Chem. Soc.*, 73, 56(1951).

氨 基 蝶 呤 Ⅱ-1(2)-0061

Aminopterin

别名 4-氨基叶酸；4氨基蝶酰谷氨酸；*N*-{*p*-[(2,4-diamino-6-pteridylmethyl)amino]benzoyl}glutamic acid；4-氨基-PGA

结构式



分子式 $C_{19}H_{20}N_8O_5$ **分子量** 440.42

理化性质 含有2份结晶水的为黄色针状簇结晶。

理化参数 在0.1 mol/L氢氧化钠溶液中，最大吸收λ 261 nm，282 nm，373 nm。logε4.41，4.39，3.91。

制备方法[1] 2,4,5,6-四氨基嘧啶和二羟基丙酮反应生成2,4-二氨基-6-羟甲基蝶啶，产率80%，而后和溴化氢反应生成2,4-二氨基-6-溴甲基蝶啶溴化氢盐，产率39%。

将上述溴化氢盐的化合物与*N*-(对氨基苄氧基)-谷氨酸在20～25℃反应20小时，即可生成氨基蝶呤。

贮存 干燥密闭贮存。

用途 可作抗瘤药物。

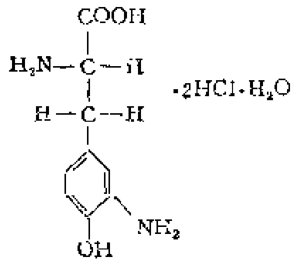
参 考 文 献

〔1〕 Piper, J. R. and Montgomery, J. A.; *J. Heterocycl. Chem.*, 11, 279(1974).

3-氨基-L-酪氨酸二盐酸盐 Ⅱ-1(2)-0062

3-Amino-L-tyrosine dihydrochloride monohydrate

结构式



分子式 $C_9H_{12}N_2O_3$ **分子量** 287.15

(不含盐酸和水的分子量为196.21)

理化性质 白色结晶。溶于水。

理化性质 熔点158～160℃（分解）。[α]$_D^{25}$ -3.61°（于4mol/L盐酸溶液中）。

制备方法[1] 8 g 酪氨酸悬浮于 30 mL 水中，加入 21.4 ml 相对密度为1.42的硝酸，温度低于25℃，硝基化合物缓慢结晶，在0℃放置一些时候，收集结晶并且悬浮于同体积的水中，加入氨水直到溶液呈中性，煮沸后加入氨水使之中性，冷却，收集结晶，洗涤结晶，干燥，得7.25 g，产率为72.5%。上述3-硝基-酪氨酸按照Waser 和Lewandowski 的方法[2]制得3-氨基酪氨酸，产率48%。

贮存 避光，干燥密闭贮存。

参 考 文 献

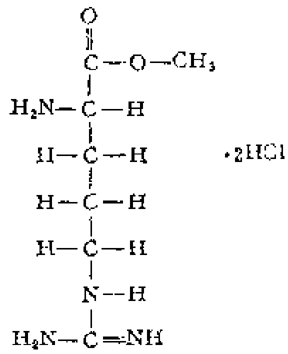
[1] Harington, C. R. and Rivers R. V. P.: *Biochem. J.* 38, 320(1944).

[2] Waser, E. and Lewandowski, M.: *Helv. Chem. Acta.*, 4, 657(1921).

L-精氨酸甲酯二盐酸盐 Ⅱ-1(2)-006

L-Arginine methyl ester dihydrochloride

结构式



分子式 $C_7H_{16}N_4O_2 \cdot 2HCl$ **分子量** 261.15

(含1分子结晶水为297.61)

理化性质 白色结晶。溶于甲醇。

理化参数 熔点～190℃(分解)。$[\alpha]_D^{20}+21°$($C=2.5$于甲醇中)。

制备方法 将精氨酸悬浮于无水甲醇中，通入干燥的氯化氢气体，待饱和后放置过夜。次日减压浓缩，除去氯化氢和甲醇，残剩物中再加入甲醇溶解，反复减压浓缩抽去氯化氢，最后再加入少量甲醇溶解残剩物，而后加入干乙醚，放置后即可得结晶。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

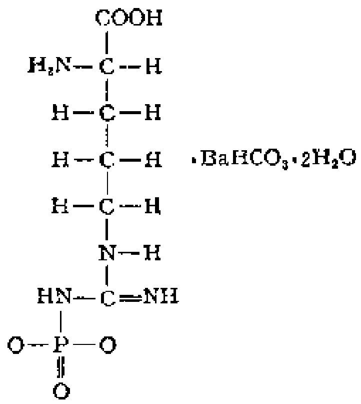
〔1〕 Zervas, L. et al: *J. Org. chem.*, 22, 1515(1957).

磷酸精氨酸钡盐 Ⅱ-1(2)-0064

Ba phosphoarginine

别名 Arginine phosphate barium salt

结构式



分子式 $C_6H_{14}N_4O_5P \cdot BaHCO_3 \cdot 2H_2O$ **分子量** 469.57

(除去无机盐和水为253.18)

理化性质 白色结晶。溶于水。$[\alpha]_D+2.0°$ (于水中)。

制备方法[1] 从新鲜蟹肉中提取制得，每kg蟹肉可得10g。

贮存 干燥密闭贮存。

备注 苦味盐酸的熔点为205℃分解。苦酮酸盐的熔点为233～234℃分解。

参 考 文 献

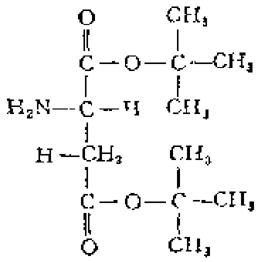
〔1〕 Ennor, A. H. et al: Biochem. J., 62, 358(1956).

L-天冬氨酸二叔丁钡盐酸盐 Ⅱ-1(2)-0065

L-Aspartic acid di-*t*-butyl ester hydrochloride

别名 Asp-(OTB)$_2$·HCl

结构式



分子式 $C_{12}H_{23}NO_4 \cdot HCl$ **分子量** 281.78

(无盐酸为245.32)

理化性质 白色结晶。熔点152～154℃。

制备方法 将苄氧酰氨基天冬氨酸160 m mol，溶于含有1%浓硫酸的二氯甲烷中，盐冰浴冷却，通入异丁烯使体积达800mL左右，取出扎紧瓶口，使不漏气，室温反应一周之后，再将瓶置于盐冰浴中冷却打开瓶口，通入干燥空气，驱除异丁烯，使反应体积为原来的$\frac{1}{4}$时，用乙醚抽提4次，合并醚层，用5%碳酸氢钠溶液洗涤1次，再用饱和氯化钠溶液洗2次，然后用无水硫酸钠干燥，过滤除去固体，滤液浓缩成小体积即可得中间体，产率约50%。

将上述中间体置于无水甲醇中，加入铂黑，通入氢气10小时，除去苄氧酰基，通氢完毕后，减压除去甲醇，残渣用少量甲醇溶解冷却可得结晶。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

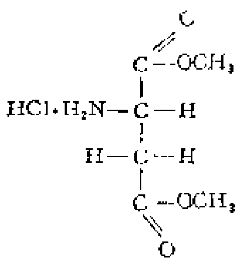
〔1〕 Taschner, E. et al; *Ann Chem.*, 646, 127(1961).

L-天冬氨酸二甲酯盐酸盐 Ⅱ-1(2)-0066

L-Aspartic acid dimethyl eater hydrochloride

别名 ASP-(OMe)$_2$·HCl

结构式



分子式 $C_6H_{11}NO_4 \cdot HCl$ **分子量** 197.62

(无盐酸盐为161.16)

理化性质 白色结晶。溶于甲醇；不溶于水。

制备方法 参阅L-精氨酸甲酯二盐酸盐（Ⅱ-1(2)-0063）的制备方法。

贮存 干燥密闭贮存。

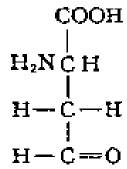
L-天冬氨酸-β-半醛

Ⅱ-1(2)-0067

L-Aspartic-β-semialdehyde

别名 丁氨醛酸；2-氨基丁醛酸 2-aminosuccinaldehydic acid 4-aspartal

结构式



分子式 $C_4H_7NO_3$ **分子量** 117.11

理化性质 白色固体。溶于水、无机酸。

制备方法[1] 可从α-乙酰氨基丙烯基丙二酸乙酯作为原料合成N-乙酰-DL-丙烯基甘氨酸，除去乙酰基，而后合成N-苄氧羰基丙烯基甘氨酸，上述化合物双键打开形成内酯，在稀氢氧化钠溶液中水解生成N-苄氧羰基L-天冬氨酸-β-半醛，最后在稀盐酸中水解除去苄氧羰基，生成L-天冬氨酸β-半醛。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

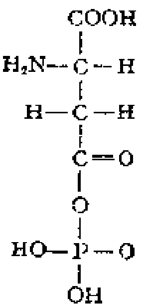
〔1〕 Neuberger, a. and Tait, G. H.; *J. Chem. Soc.*, 3963(1962).

β-L-天冬氨酸磷酸酯

Ⅱ-1(2)-0068

β-L-Aspartylphosphate

结构式



分子式 $C_4H_8NO_7P$ **分子量** 213.09

理化性质 油状物。

制备方法[1] N-苄氧羰基门冬氨酸-α-苄酯-γ-银盐，是通过N-苄氧羰基门冬氨酸-α-苄酯在碱性条件下与等当量的硝酸银反应而制得，再与磷酯二苄基酰氯（Cl-PO(OCH$_2$-C$_6$H$_5$)$_2$)反应生成N-苄氧羰基门冬氨酸-α-苄酯-γ-二苄基磷酸和氯化银沉淀，除去沉淀后，反应生成物为油状，在10%溴化氢四氯化碳的溶剂中反应，反应完毕后，除去溴化氢得产物，产率为80%。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

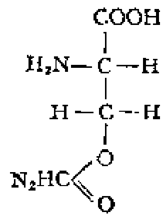
〔1〕 Katchalsky, A. and Paccl.t, M.; *J. Am. Chem. Soc.*, 76, 6042(1954).

氮 丝 氨 酸 　　Ⅳ-1(2)-0069

Asaserine

别名 重氮乙酰丝氨酸

结构式



分子式 $C_5H_7N_3O_4$ 　　**分子量** 173.13

理化性质 从 90 % 的乙醇中得到淡黄到绿色结晶。极易溶于水；微溶于甲醇、乙醇和丙酮。

理化参数 熔点146～162℃（分解）。$[\alpha]_D^{23}-0.6°$（$C=8.46$ 于水中 pH 5.18）。紫外吸收光谱在水中 pH7 $\lambda_{最大}$250.51nm；$A_{1cm}^{1\%}$ 1140。于0.1mol/L氢氧化钠溶液中$\lambda_{最大}$252nm；$A_{1cm}^{1\%}$ 1230。PI8.55。毒性LD_{50}150～170mg/kg/d小鼠。

制备方法[1,2] 苄氧羰基丝氨酸和苄氧羰基甘氨酸酐，以混合酸酐法接肽，生成*O*-苄氧羰基甘氨酰苄氧羰基丝氨酸，而后催化氢化脱去苄氧羰基，生成*O*-甘氨酰丝氨酸的二肽（$[\alpha]_D^{23}+19.4°$），再进行重氮化反应，生成氮丝氨酸。

贮存 干燥避光密闭贮存。

备注 抗瘤药物。

参 考 文 献

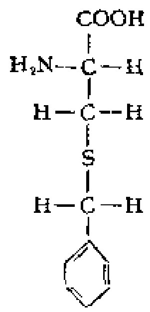
〔1〕 Ehrlich, J et al; *U. S. Pats.* 2, 996, 435(1961).
〔2〕 Moore, J. A. et al; *U. S. Pats* 3, 030, 388(1962).

S-苄基-L-半胱氨酸 　　Ⅳ-1(2)-0070

S-Benzyl-L*Cysteine

别名 *S*-BZCys

结构式



分子式 $C_{10}H_{13}NO_2S$ **分子量** 211.28

理化性质 片状结晶。溶于热水。

理化参数 熔点 210～212℃。$[\alpha]^{20}_{D}$ + 19.8°（C＝0.4，于1mol/L氢氧化钠溶液中）。

制备方法[1] 90g半胱氨酸盐酸盐溶于520 mL 3 mol/L氨水溶液中。用盐冰浴冷却到3℃，在激烈搅拌下滴加入125mL氯化苄，反应温度保持在5℃以下，约2小时加毕，继续搅拌1小时，过滤，用冷水洗涤，再用乙酸乙酯洗涤得粗产品，熔点在205～209℃，而后用热水溶解重结晶得产品。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

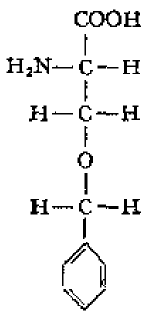
〔1〕 Zervas, L. et al: *J. Am. Chem Soc.*, 85, 1337(1963).

O-苄基-L-丝氨酸 Ⅱ-1(2)-0071

O-Benzyl-L-serine

别名 *O*-Bz-L-Ser; 2-Amino-3-benzyloxypropionic acid

结构式



分子式 $C_{10}H_{13}NO_3$ **分子量** 195.22

理化性质 白色粉末状结晶。

理化参数 熔点222～224℃。$[\alpha]^{20}_{540}$26°（C＝2，于8mL冰乙酸＋1mL1mol/L盐酸加1mL水的溶剂中）。

制备方法[1] 以丙烯酸甲酯为原料，与溴作用生成二溴代丙酸甲酯（$CBrH_2CHBrCO_2CH_3$），再与 —CH_2ONa作用，生成$C_6H_5CH_2OCH_2CHBrCO_2CH_3$，再皂化后酸化生成苄氧基溴代丙酸（$C_6H_5CH_2OCH_2CHBrCO_2H$），在浓氨水中生成DL-苄基丝氨酸。经乙酰化后，生成*O*-苄基-DL-乙酰丝氨酸，经酰基酶拆分后得*O*-苄基-L-丝氨酸与*O*-苄基-D-乙酰丝氨酸，经结晶和重结晶得*O*-苄基-L-丝氨酸。

贮存 干燥密闭贮存。

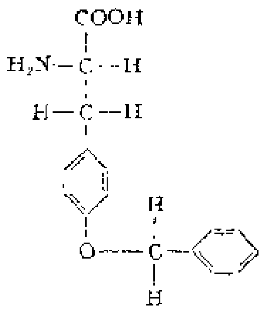
参 考 文 献

〔1〕 Bretschneider, H. et al: *Monat. Chem.*, Bd84, 1084(1953).

O-苄基-L-酪氨酸 Ⅱ-1(2)-0072

O-Benzyl-L-tyrosine

结构式



分子式 $C_{16}H_{17}NO_3$ **分子量** 271.32

理化性质 白色片状结晶。溶于二甲基甲酰胺(DMF)，不溶于水。

理化参数 熔点224～226℃(分解)。$[\alpha]^{20}_{546}-8°$($C=1$，于80%乙酸中)。

制备方法 20g酪氨酸（110.5m mol）溶于110 mL 2 mol/L氢氧化钠溶液中，搅拌下加入13.8g硫酸铜（含5个结晶水），溶于20mL水中的溶液，加入300mL甲醇，待少量颗粒析出。然后一次加入20mL溴化苄，剧烈搅拌，很快有天蓝色沉淀产生，再搅拌2小时后过滤，沉淀用甲醇和水（1:3.5）的溶液500mL洗涤，再用1mol/L氢氧化铵溶液洗涤1次，水洗3次，丙酮和乙醚（1:1）洗3次，到滤液无蓝色的铜离子后取出，干燥后用沸腾的乙酸80%溶液溶解，冷却后能析出晶体，置冰箱过夜，次日过滤得17.5g产品，用DMF重结晶。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

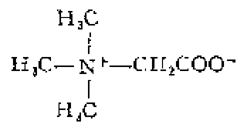
〔1〕 Morley, J. S.; *J. Chem. Soc.*, 2410(1967).

甜 菜 碱 Ⅱ-1(2)-0073

Betaine

别名 甘氨酸三甲内盐 Glycine betaine; Lycine; Oxyneurine

结构式



分子式 $C_5H_{11}NO_2$ **分子量** 117.15

理化性质 单斜棱状结晶。溶于水；微溶于乙醚。

理化参数 溶解度 水中157$^{19°}$，乙醇中8.6$^{18°}$。熔点301～305℃(分解)。pKa 1.83。

制备方法[1] 利用羟基季胺和卤代乙酸的反应来制备。1 mol的氯乙酸加到2.2 mol的15%三甲胺溶液中去，在50～60℃保温1小时，每165mL的反应液用水稀释到1000mL，通过Amberlite IRA-410的树脂，除去过量的三甲胺，流出液用真空减压浓缩，可得110g甜菜碱的水合物。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

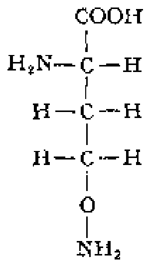
〔1〕 Vassel, B.; *Brit.*, 771, 082(1957).

副刀豆氨酸　　Ⅱ-1(2)-0074

Canaline

别名　α-氨基-γ-氨氧基-正丁酸

结构式

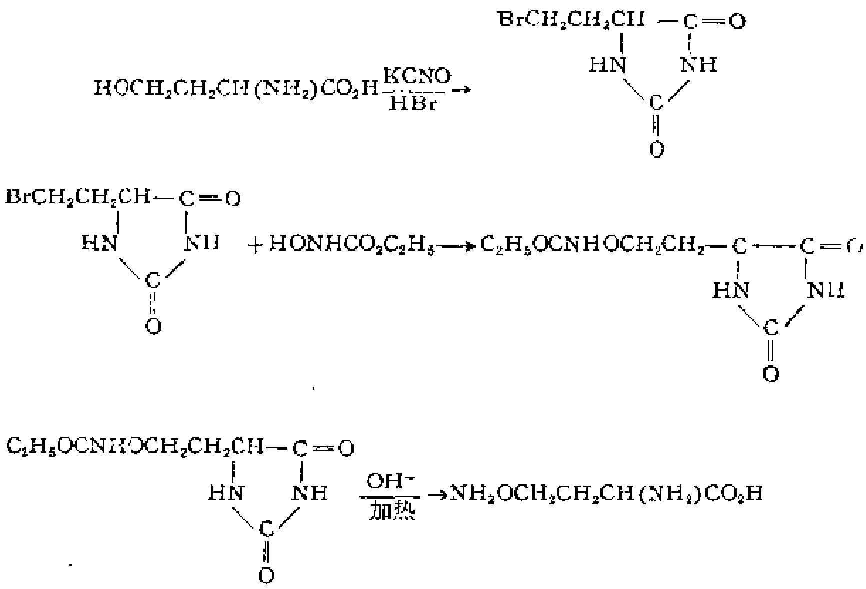


分子式　$C_4H_{10}N_2O_3$　　**分子量**　134.14

理化性质　从乙醇中得到的针状结晶。极易溶于水；溶于冰乙酸；少溶于乙醇。

理化参数　熔点为214℃(分解)。$[\alpha]_D^{21}$8.31°（于水中）。pK^{25}2.4（羧基）；3.7（氨氧基）；9.2(α-氨基)。

制备方法[1]



贮存　干燥密闭贮存。

备注　合成的DL型，熔点为195℃分解，经乙酰化后，用酰化酶拆分可制得L-型的产品。

参 考 文 献

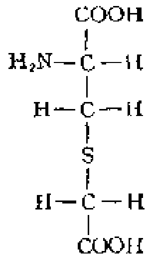
〔1〕 Nyberg, D. D. and Christensen, B. E.: *J. Am. Chem. Soc.*, 79, 1222(1957).

S-羧甲基-L-半胱氨酸　　Ⅱ-1(2)-0075

S-Carboxymethyl-L-cysteine

别名　3-羧甲硫代丙氨酸

结构式



分子式 $C_5H_9NO_4S$ **分子量** 179.19

理化性质 白色结晶。溶于水。

理化参数 熔点 205～207℃。$[\alpha]_D^{25}$+0.5°（于1mol/L盐酸中）。

制备方法[1] 以卤代化合物于稀碱溶液中，在室温下和半胱氨酸作用可得产率为72%的产品。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

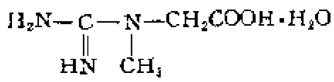
〔1〕 Goodman, L. et al: *J. Org. Chem.*, 23, 1251(1958).

肌　　酸 Ⅲ-1(2)-0076

Creatine

别名 β-甲胍基乙酸；甲基胍基乙酸；N-脒基肌氨酸

结构式



分子式 $C_4H_9N_3O_2 \cdot H_2O$ **分子量** 149.15

理化性质 从水中得到的含有1分子结晶水为单斜状结晶。溶于水中；微溶于乙醇；不溶于乙醚。

理化参数 熔点 295℃(分解)。pK^{12} 2.63（羧基）14.3(胍基)。

制备方法[1]

$$CH_3NHCH_2CO_2H \xrightarrow[\text{加热}]{NH_2CN} NH_2C[=NH]N[CH_3]CH_2CO_2H$$

用β-甲氨基乙酸（肌氨酸）和氰化氨作用于120℃，6小时后能生成肌酸。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

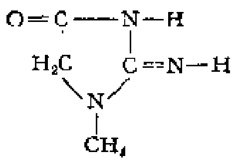
〔1〕 King, H.: *J. Chem. Soc.*, 2374(1930).

肌 酸 酐 Ⅲ-1(2)-0077

Creatinine

别名 甲基胍基乙酸内酰胺

结构式

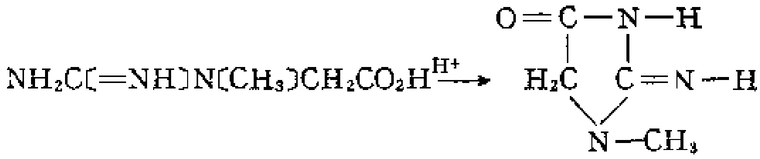


分子式 $C_4H_7N_3O$ **分子量** 113.12

理化性质 针状结晶。溶于水；微溶于乙醇。

理化参数 熔点260℃（分 解）。p*K*a4.80，9.2。紫外吸收光谱$\lambda_{最大}$217 nm，ε 4500，于pH<3的水溶液中。$\lambda_{最大}$234nm，ε6900，于pH6.5～12.3的水溶液中。$\lambda_{最大}$225nm，ε11100，于1mol/L氢氧化钾溶液中。

制备方法[1]



将肌酸在浓盐酸溶解后，即生成肌酸酐。

贮存 干燥密闭贮存。

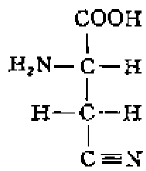
参 考 文 献

〔1〕 Edgar C. and Hinegardner W. S.: "Org. Syn.", Vol. 4, N. Y. Wiley, 15 1925.

L-β-氰丙氨酸 Ⅱ-1(2)-0078

L-β-Cyanoalanine

结构式



分子式 $C_4H_6N_2O_2$ **分子量** 114.11

理化性质 从水中得到矩形针状结晶。溶于水；微溶于二氧陆环中。与茚三酮反应生成淡灰紫色。

理化参数 熔点214～218℃（分 解）。$[\alpha]_D^{26}$ −2.9 (*C*=1.4，于 1 mol/L 乙酸溶液中)。$[\alpha]_D^{23}$ −46°(*C*=0.47，于二甲基酰胺中)。p*K*1.7(羧基)，7.4(氨基)，与茚三酮生成的产物。$\lambda_{最大}$308nm，415nm和570nm。

制备方法[1]

1. 苄氧羰基-β-氰丙氨酸的合成 15g苄氧羰基-L-门冬酰胺于75mL重蒸吡啶中溶解，于16～20℃时加入38mL吡啶中溶解122g的二环己基碳二亚胺（DCCI），边加入边搅拌，30分钟加完，室温放置不超过3小时，过滤除去二环己基脲素，滤液真空浓缩至小体积，过滤除去沉淀，然后真空浓缩至糖浆状，用水稀释后冷却1小时过滤除去固体，滤液用6mol/L盐酸酸化，得白色固体结晶12g。产率86%，熔点130～131℃。

2. β-氰丙氨酸的合成　700mL干燥液氨于1L圆底烧瓶中，加入7.5g，上述苄氧羰基β-氰丙氨酸后，再加入1.9g金属钠，反应完毕后，加入37g氨型强阳离子树脂，而后用水泵减压，除去液氨，树脂在水中搅拌，过滤除去树脂，滤液在室温减压浓缩至10mL，用6 mol/L盐水调pH5，得针状结晶，过滤干燥后得1.77g成品，产率51%。

贮存　干燥密闭贮存。

参 考 文 献

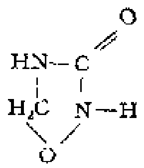
〔1〕 Ressler, C. and Ratzkin, H.: *J. Org. Chem.*, 26, 3356(1961).

D-环丝氨酸　　Ⅱ-1(2)-0079

D-Cycloserine

别名　D-4-氨基-3-异噁唑啉；Oxamycin, Seromycin。

结构式



分子式　$C_3H_6N_2O_2$　　**分子量**　102.09

理化性质　白色结晶。溶于水。

理化参数　熔点155～156℃。〔α〕$_D^{23}$ +116°(C=1.7)；〔α〕$_{546}^{25}$ +137°(C=5，于2mol/L氢氧化钠溶液中)。λ最大226nm，$A_{1cm}^{1\%}$402(于水溶液中，pH6)。

制备方法[1]　可用2-苯-4-乙酰基-2-噁唑啉为原料制4-苯甲酰胺基-5-甲基-3-异噁唑啉，将此化合物为起始反应的化合物。

上述化合物0.5g溶于10mL含氯化氢的无水干燥的甲醇中，回流3小时，加入50mL干乙醚可得甲基-α-氨基-β-氨氧代丙酸二盐酸盐(Methyl-amino-B-amimaxypropionate·2HCl)；熔点133～136℃，重结晶后熔点可提高到165℃分解。

上述中间体2.07g于12.0mL 2.51mol/L的氢氧化钠中，稀释到60mL，25℃放置10分钟，冷冻干燥得到的反应产物0.97g于6mL蒸馏水中，用1mol/L的氢氧化钾25mL调节pH到11，然后加入12mL丙醇 ($CH_3CHOHCH_3$)，再加入15mL乙醇，混合的溶液冷却到5℃，用冰乙酸调节pH到6，放置得到结晶，过滤后沉淀用乙醇洗，再用乙醚洗，真空干燥得74.5 mgDL-4-氨基-3-异噁唑啉。

用酒石酸拆分光学异构体方法得L-及D-型的化合物。

贮存　干燥密闭贮存。

备注　L-型熔点165.5～166℃。〔α〕$_D^{24}$ -41°(C=0.7，于水中)。

D-型是一种抗菌素。

参 考 文 献

〔1〕 Holly, F. W. and Stammer, C. H.: *U. S. Pats* 2,840,565(1958).

胱　胺　　Ⅱ-1(2)-0080

Cystamine

别名　2,2′-二硫代二乙胺；2,2′-二乙氨基二硫　2,2′-Dithiobis ethylamine；Cystinamine

结构式

$$\begin{array}{l} S—CH_2CHNH_2 \\ | \\ S—CH_2CHNH_2 \end{array}$$

分子式　$C_4H_{12}N_2S_2$　　**分子量**　152.28

（二盐酸盐225.20）

理化性质　油状物。二盐酸盐为针状或片状结晶。溶于水，微溶于乙醇。

理化参数　油状物的沸点为106～108℃；二盐酸盐为217℃。pK^{30}8.82，9.58。

制备方法[1]　用 $(CH_2)_2NH_2$作原料，在60℃通入硫化氢，可得 $HSCH_2CH_2NH_2$，产率13.6%，而后用过氧化氢氧化，即得胱胺，几乎定量的回收。

贮存　干燥密闭贮存。

参 考 文 献

〔1〕 Nathan, A. H. and Bogert, M. T.: *J. Am. Chem. Soc.*, 63, 2361(1941).

半 胱 胺　　Ⅱ-1(2)-0081

Cysteamine

别名　2-巯基乙胺；2-氨基硫代乙烷

结构式　$HSCH_2CH_2NH_2$

分子式　C_2H_7NS　　**分子量**　77.15

（含有1分子盐酸为113.61）

理化性质　白色固体，盐酸盐为吸湿性的白色针状结晶。溶于水，95%乙醇。

理化参数　熔点97～98.5℃，盐酸盐为70～72℃。pK8.35，10.81。

制备方法[1]　11.6g2-氨基氯乙烷盐酸盐溶于 40 mL 10% 的氢氧化钠的溶液中，加入 20 mL 环己酮，然后，再加入100mL的含有24g硫化钠（$Na_2S_2 \cdot 9H_2O$）和3.2g硫的水溶液，在水浴上保湿反应2小时，冷却后用乙醚抽提，用真空减压（933.1Pa）蒸馏收集，沸点91～92℃的产品，产率7.3g，盐酸盐为无色针状结晶。在甲醇-乙醚中重结晶，得熔点164～166℃或154～155℃的精品。

上述螺环己烷-1,2-噻唑烷spiro(cyclohexane-1,2-thiazolidine)8g于50mL20%盐酸中沸腾2小时，得黄棕色液体，黄棕色反应液蒸发至干，得到胶状物，溶于20mL水中，在氮气流下加入氯化汞（$HgCl_2$），直到沉淀析出，过滤，用水洗后，再用甲醇洗，得19.1g沉淀，熔点200℃；而后用100mL甲醇溶解结晶，过滤除去不溶解的硫化汞，滤液蒸发至干得3.8g产品。

贮存　避光干燥贮存。

参 考 文 献

〔1〕 Taguchi, T.: *J. Am. Chem. Soc.*, 81, 4322(1959).

磺基丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0082

Cysteic acid

结构式 $HO_3SCH_2CH(NH_2)CO_2H$

分子式 $C_3H_7NO_5S$ **分子量** 170.17

（含有1分结晶水的为188.18）

理化性质 从水中得到的含有1分子结晶水为片状或针状，从乙醇溶液中得到的为棱形八面体结晶。易溶于水；不溶于乙醇。

理化参数 熔点含有结晶水的为289℃（分解），无结晶水的为260℃（分解）。$[\alpha]_D$8.66（C=7.4，于水中）。pK1.3(磺基)，1.9(羧基)，8.7(氨基)。

制备方法[1] 24g L-胱氨酸溶解于预冷的50mL浓盐酸和预冷的150mL蒸馏水中，而后加入80g溴，激烈搅拌40分钟，减压真空浓缩至干，残渣用水溶解后重结晶，即可得产品。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

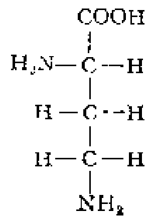
〔1〕 Clarke, H. T. and Inouyl, J. M.: *J. Biol. Chem.*, 94, 541(1931～1932).

L-2,4-二氨基正丁酸 Ⅲ-1(2)-0083

L-2,4-Diamino-n-butyric acid

别名 α,γ-二氨基丁酸

结构式



分子式 $C_4H_{10}N_2O_2$ **分子量** 118.14

（单盐酸盐为154.60，双盐酸盐为191.06）

理化性质 单盐酸盐可从乙醇和水中得到，为片状结晶；双盐酸盐从冰乙酸和盐酸中得到，为棱柱状结晶。溶于水、无机酸。

理化参数 熔点197～198℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}$ +7.2°（C=2，于水中，碱基自由）；$[\alpha]_D^{25}$ +24.2°（C=2，于5mol/L盐酸溶液中，单盐酸盐）。$[\alpha]_D^{18}$ +14.6°（C=3.67，于水中，双盐酸盐）。pK^{20}1.85(羧基)，8.28(胺基)，10.50(胺基)

制备方法[1] 用DL-2,4-二氨基正丁酸作用后，乙酰化后，用酰基酶拆分。参阅N^6-乙酰-L-赖氨酸（Ⅲ-1(2)-0027)。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

〔1〕 Pauletta, G. and Defanceschi, A.: *Biochem. Biophys. Acta*, 8, 271(1952).

DL-2,4-二氨基正丁酸　　Ⅱ-1(2)-0084

DL-2,4-Diamino-n-butyric acid

别名　α,γ-二氨基丁酸

结构式　$H_2NCH_2CH_2CH(NH_2)CO_2H$

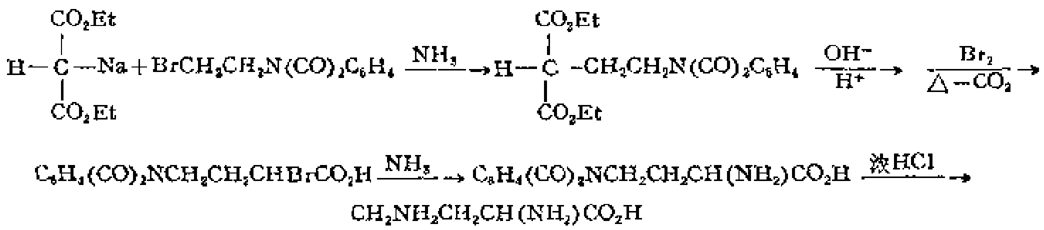
分子式　$C_4H_{10}N_2O_2$　　**分子量**　118.14

（单盐酸盐为154.60，双盐酸盐为191.06）

理化性质　单盐酸盐可从乙醇和水中得到，为棱柱状结晶。双盐酸盐可从冰乙酸和盐酸中得到，为六角棱柱形结晶。溶于水，无机酸。

理化参数　熔点单盐酸盐为228～230℃(分解)；双盐酸盐为202～206℃(分解)。

制备方法[1,2]



上述反应是本世纪初完成，产率为18%。

从谷氨酸作起始原料和叠氮钠在硫酸溶液中（即叠氮酸）反应，而后分离可得产品，产率为42%。

贮存　干燥密闭贮存。

参考文献

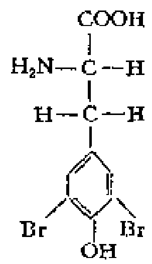
〔1〕 Adamoon, D. W.: *J. Chem. Soc.*, 1564(1939).
〔2〕 Blass, J. et al: *Bull. Chim. Biol.*, 33, 1552(1951).

3,5-二溴-L-酪氨酸　　Ⅱ-1(2)-0085

3,5-Dibromo-L-tyrosine

别名　α-氨基-β-3,5-二溴-4-羟基苯丙酸；β-对羟基-3,5-二溴苯丙氨酸

结构式



分子式　$C_9H_9O_3NBr$　　**分子量**　399.00

理化性质　白色结晶。溶于水。

理化参数　熔点243～246℃。$[\alpha]_D^{20}$ −2.4°(于0.3mol/L盐酸溶液中)。$[\alpha]_D^{20}$ −5.5°（于水中）。

制备方法[1] 30g酪氨酸悬浮于100mL冰乙酸中，滴加54g溴和200mL冰乙酸的溶液，缓慢搅拌，反应温度低于20℃，加毕后30分钟3,5-二溴酪氨酸溴化氢盐生成，放置过夜，沉淀过滤，用少量乙酸洗涤沉淀，得粗品。母液浓缩后还可得一些粗品。将粗品溶于水，用2mol/L氢氧化钠调节pH5，从水中重结晶的为2分子水。

贮存 避光，干燥密闭贮存。

参考文献

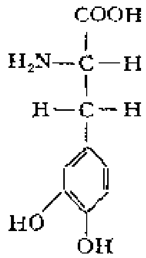
[1] Schuegraf. K.; *Helv. Chim. Acta.*, 12, 405(1929).

β-(3,4-二羟基苯)-L-丙氨酸 Ⅱ-1(2)-0086

β-(3,4-Dihydroxyphenyl) L-alanine

别名 2-氨基-3-(3,4-二羟基苯) 丙酸

结构式



分子式 $C_9H_{11}NO_4$ **分子量** 197.19

理化性质 从水中得到白色针状成棱柱状结晶。溶于酸或碱的水溶液，中性的水中溶解度较小；不溶于乙醇、乙醚。在水中溶解后很快被氧化，溶液呈绿色。

理化参数 熔点275～286℃（分解）。$[\alpha]_D 39.5°$（于水中）；$[\alpha]_D^{20}$ $-19.1°$（$C=1$于0.05mol/L盐酸溶液中）；$[\alpha]_D^{25}$ $-12.0°$（$C=2$，于1mol/L盐酸溶液中）。pK^{25}2.32(羧基)，8.72(氨基)，9.96(羟基)，11.79(羟基)。

制备方法[1] 20g 3-氨基-L-酪氨基溶于160mL冷的硫酸中（浓度1:5）。再加入预冷的蒸馏水200mL。11.7g硝酸钡溶于200mL水中，逐渐滴入，并不断搅拌，加毕后再将此溶液在搅拌下加到200mL含有150g硫酸铜（$CuSO_4$）的煮沸的溶液中去。通入氮气，并使溶液迅速冷却。过滤，滤液通入硫化氢到饱和，过滤除去沉淀，等当量加入氢氧化钡，除去硫酸根，过滤后滤液在氮气流中蒸发至干，即为产品，重结晶用含有二氧化硫的蒸馏水600mL溶解，得产品17g。

贮存 干燥密闭贮存。

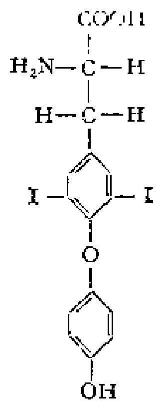
参考文献

[1] Waser, F. and Lewandowshi, M.; *Helv. Chim. Acta.*, 4, 657(1921).

3,5-二碘-L-甲状腺原氨酸 Ⅱ-1(2)-0087

3,5-Diiodo-L-thyronine

结构式

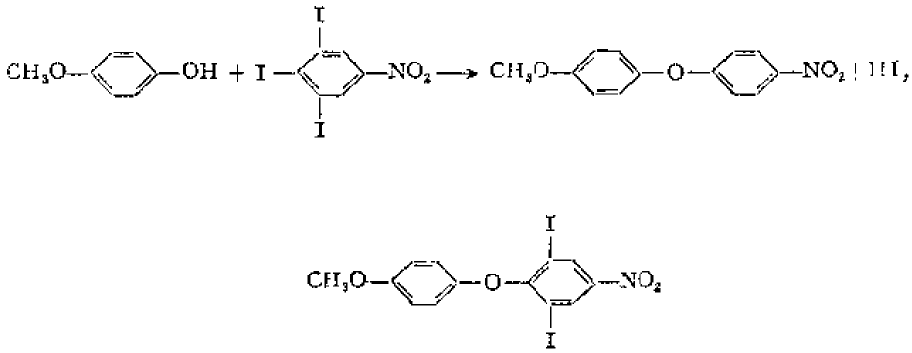


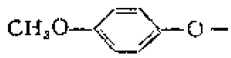
分子式 $C_{15}H_{13}I_2NO_4$ **分子量** 575.03

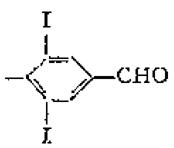
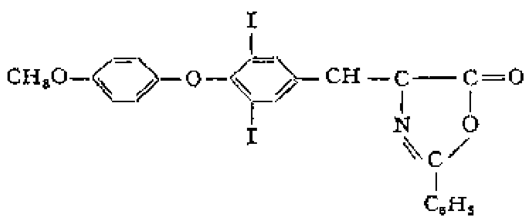
理化性质 白色结晶。不溶于水；溶于酸性的乙醇溶液。

理化参数 熔点256℃(分解)，盐酸盐为235～240℃。$[\alpha]_D^{22}$ +26°(C=1.06，于1mol/L盐酸溶液和乙醇1:2的溶液)。

制备方法[1~3]



通过重氮化作用后，以氰化铜处理（Sadmeyer反应），醛化后成为 

 ，此化合物与马尿酸作用生成 

（azlactone）在酸-乙醇中开环，盐酸水解后生成DL-型产品。再经酰化反应后，用酰化酶光学拆分得L-型及D型产品。

贮存 避光干燥密闭

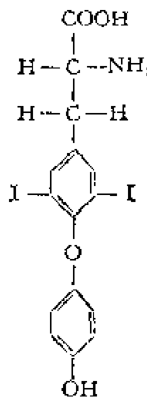
参 考 文 献

〔1〕 Hillmann, C.: *U. S. Pats* 2, 886,692(1959).
〔2〕 Meltzer, R. I.: *U. S. Pats* 3, 102,136(1963).
〔3〕 Elks, J. and Waller, G. J., *J. Chem. Soc.* 2366(1952).

3,5-二碘-D-甲状腺原氨酸 Ⅱ-1(2)-0088

3,5-Diiodo-D-thyronine

结构式



分子式 $C_{15}H_{13}I_2NO_2$ **分子量** 575.08

理化性质 白色结晶。不溶于水；溶于酸性乙醇溶液。

理化参数 熔点256℃(分解)。$[\alpha]_D^{20}$ −27.1°(C=1，于1mol/L:乙醇1:2溶液中)。

制备方法 参阅3,5-二碘-L-甲状腺原氨酸（Ⅱ-1(2)-0087）的制备。

贮存 避光，干燥密闭贮存。

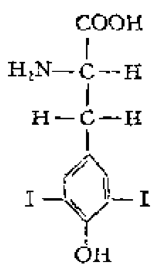
备注 DL-型为片状结晶。其熔点256～257℃(分解)。

3,5-二碘-L-酪氨酸 Ⅱ-1(2)-0089

3,5-Diiodo-L-tyrosine

别名 β-对羟基-3,5-二碘苯丙氨酸；α-氨基-β-3,5-二碘-4-羟基苯丙酸

结构式



分子式 $C_9H_9O_3NI_2$ **分子量** 432.99

理化性质 从水中或70%乙醇中得到集成球的针状结晶。微溶于水。

理化参数 熔点213℃(分解)。$[\alpha]_D^{20}$ +2.89°（0.246g于5g 4%的盐酸溶液中)。$[\alpha]_D^{20}$ +2.27°(0.227g于5g25%的氨水中)。pK2.12，6.48，7.82。

制备方法[1] 181.2gL-酪氨酸溶于3620mL浓氨水中加入2000mL 10%碘化钾溶液中含有1g分子碘，振荡均匀后，在减压真空中浓缩除去氨，直到有沉淀产生，待沉淀完全后过滤，用冷水洗涤沉淀，在50%乙酸中重结晶，产率约60%。

贮存 避光，干燥密闭贮存。

参 考 文 献

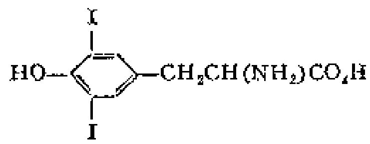
〔1〕 Wheeler, . H. L. and Jamieson, G. S.: *Am. Chem. J.*, 33, 365(1905).

3,5-二碘-DL-酪氨酸 Ⅱ-1(2)-0090

3,5-Diiodo-DL-tyrosine

别名 β-对羟基-3,5-二碘苯丙氨酸；α-氨基-β-3,5-二碘-4-羟基苯丙酸

结构式



分子式 $C_9H_9O_3NI_2$ **分子量** 432.99

理化性质 从70%乙醇中得到双重楔形晶体，从水中得到片状结晶。

理化参数 熔点～200℃(分解)，溶解度（每1000mL中溶解的克数）：0℃为0.149；25℃为0.340；50℃为0.773。

制备方法 以DL-酪氨酸为原料，按L-二碘酪氨酸（Ⅱ-1(2)-0089)制备。

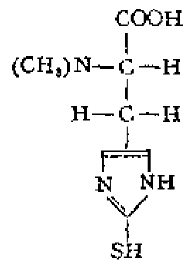
贮存 避光干燥密闭贮存。

L-巯组氨酸三甲（基）内盐 Ⅱ-1(2)-0091

L-Ergothioneine

别名 硫因；麦硫因Thiasine；β-2-巯咪唑基丙甜菜碱；2-巯基组氨酸三甲基甜菜碱

结构式



分子式 $C_9H_{15}N_3O_2S$ **分子量** 229.33

（含有2分子结晶水的为265.53）

理化性质 从水中得到的含有2分子结晶水的为片状结晶，从乙醇中得到无结晶水的为针状结晶。溶于水；微溶于热乙醇；不溶于冷乙醇、氯仿和苯。

理化参数 $[\alpha]_D^{27.5}$ +115(C=1，于水中)。$\lambda_{最大}$258nm。ε为16,000。

制备方法[1] 2gα-巯基组氨酸悬浮在100mL乙醇中，加入5mL乙氧甲酰氯(C_2H_5OCOCl)，回流到完全溶解，冷却加入150mL干乙醚，冷却到－10℃可得到C_2H_5OCOSR〔R＝巯基组氨酸〕，产率70%，熔点189℃。

将上述反应产物3.32g悬浮于20mL水中，加入新鲜制备的氧化银悬浮于20mL水的溶液，加入1.9mL甲基碘，边冷却边振荡，需1小时，加入50mL浓盐酸，离心除去卤化银，回

流2小时，除去乙氧基碳（carboethoxy），真空蒸发至干，残渣用含有饱和硫化氢的水去沉淀银离子，过滤除去沉淀，减压浓缩除去硫化氢、再用磷钨酸沉淀产物，产物离心取得，用水洗涤，沉淀悬浮于水中，用氢氧化钡调节pH碱性，离心除去磷钨酸钡，再用稀硫酸溶液除去钡离子，得清洁的滤液，真空蒸发成小体积，冷却后有结晶析出，过滤得最终产物，可在乙醇中重结晶。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

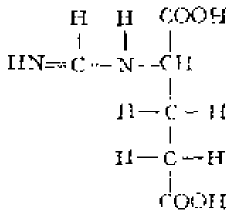
〔1〕 Heath, H. et al; *J. Chem. Soc.*, 2215(1951).

N-亚胺甲基-L-谷氨酸 Ⅱ-1(2)-0092

N-Formimino-L-glutamic acid

别名 *N*-亚氨代甲基谷氨酸；α-甲脒基戊二酸 Fomamidinoglutaric acid。

结构式



分子式 $C_6H_{10}N_2O_4$ **分子量** 174.16

理化性质 从乙醇中得到易吸湿的结晶。易溶于水；溶于甲醇、乙醇；不溶于乙醚、丙酮、氯仿、四氯化碳、二甲基甲酰胺中。

理化参数 熔点为80～87℃(分解)。$[\alpha]_D^{28}$ －10.3° （C＝0.8，于1mol/L的盐酸溶液中）。pK^{25}2.7(羧基)，4.4(羧基)，11.3。

制备方法[1] 1.47g L-谷氨酸，3.0g碳酸银和1.6g甲脒盐酸悬浮于5mL重蒸的甲酰胺中，在氮气流中室温放置36小时，电磁搅拌下反应，而后减压30分钟除去二氧化碳，反应液冷却到0℃，加入100mL0.06mol/L盐酸，过滤，滤液减压30分钟，将此溶液上强碱性阴离子柱，用0.3mol/L的乙酸和250mL水作梯度洗脱，收集150～380mL处的部分，合并洗脱液，减压浓缩至干，而后溶解于10～20mL的蒸馏水中，加入氢氧化钡的饱和溶液调节溶液pH至8，加入乙醇（约40mL）到混浊，置冰箱过夜，次日过滤得结晶，用50%乙醇洗涤，干燥得0.9～1.3g钡盐产品，用少量稀硫酸加入到水溶解的产品中去，除去硫酸钡，加入乙醇，得无钡离子的产品。

贮存 干燥密封贮存。

参 考 文 献

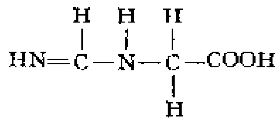
〔1〕 Shemin, D.; "Biochem. Preps". Vol. 5, 100, N. Y. John Wiley & Sons, 1957.

N-亚胺甲基甘氨酸 Ⅱ-1(2)-0093

N-Formiminoglgcine

别名 *N*-亚氨代甲基甘氨酸；甲脒基醋酸 Formamidinoacetic acid。

结构式



分子式 $C_3H_6N_2O_2$ **分子量** 102.09

理化性质 从乙醇溶液中得到白色结晶。易溶于水，无机酸和碱；微溶于乙醇。

理化参数 熔点217℃(分解)。pK^{25}为2.2，11.6。

制备方法[1] 20g甘氨酸，20g 甲脒盐酸盐和30g 重蒸的吡啶，置于200mL 的重蒸 甲胺中反应，安装搅拌和装置氯化钙干燥管与外界相通，反应置 于 50℃ 的水浴中，24 小时之后反应液冷却到0°，加入200mL无水乙醇，过滤得结晶，用氨氧化钾真空干燥，得23.7g产品，产率为93%。

提纯方法 用40mL 50%乙醇加热溶解至结晶，冷却后结晶析出，得率为70%。

贮存 干燥密闭贮存。

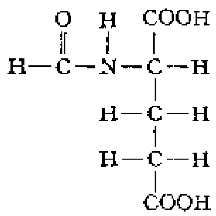
参 考 文 献

〔1〕 Shemin, D.:"Biodhem. Preps."Vol. 5 103N. Y. John Wiley & Sons 1957.

N-甲酰-L-谷氨酸 Ⅱ-1(2)-0091

N-Formyl-L-glutamic acid

结构式



分子式 $C_6H_9NO_5$ **分子量** 175.14

理化性质 从乙醇和苯的溶液中得到的易损坏的似玫瑰花形的结晶。溶于水、乙醇；不溶于苯、石油醚。

理化参数 熔点112～113℃。$[\alpha]^{20}_{D}$ −7.25°(C=2，于水中)。$[\alpha]^{28}_{D}$ −8.0(C=2，于1mol/L 盐酸溶液中)。pK^{25} 3.4(羧基)，4.9(羧基)。

制备方法[1,2] 0.10mol的L-谷氨酸于210mL 98%的甲酸中，搅拌滴加入70mL乙酸酐，反应温度控制在5～15℃之间，加毕后升至室温，在室温下搅拌1小时，再加入80mL 冰水，减压浓缩至干，残渣用水或用乙醇溶解后得结晶，产率约80%。

贮存 避光，干燥密闭贮存。

参 考 文 献

〔1〕 Borek, B. A. and Waelsch, H.: *J. Biol. Chem.*, 205, 459(1953).
〔2〕 Tabor, H. and Mehler, A. H.: *J. Biol. Chem.*, 210, 559(1954).

甘氨酸叔丁酯盐酸盐 Ⅱ-1(2)-0095

Glycine-t-butylester·Hydrochloride

结构式 $NH_2CH_2COOC(CH_3)_3 \cdot HCl$

分子式 $C_6H_{13}NO_2 \cdot HCl$ **分子量** 151.64

(非盐酸盐为115.18)

理化性质 非盐酸盐为油状物。盐酸盐为白色结晶。易吸湿。

理化参数 非盐酸盐的沸点162～165℃ (53.33Pa)

制备方法[1] 将phtls－glyOH 150mmol溶于含有1%浓硫酸的二氯甲烷中，盐冰浴冷却，通入异丁稀，使体积约800mL，扎紧瓶口使不漏气，室温反应一周，置盐冰浴冷却后打开瓶口，通入干燥空气，驱除异丁烯，当反应体积缩小到原来的四分之一时，用乙醚抽提4次，合并醚层，用碳酸氢钠溶液和饱和氯化钠溶液洗涤，无水硫酸钠干燥，过滤的滤液，浓缩成小体积得中间体，用钯黑，甲醇溶液中催化氢化得产品。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

〔1〕 Schroeder, E. and Luebke, K.; *Ann. Chem.*, 655, 211(1962).

甘氨酸乙酯盐酸盐 Ⅱ-1(2)-0096

Glycine ethyl ester Hydrochloride

结构式 $NH_2CH_2COOC_2H_5 \cdot HCl$

分子式 $C_4H_9NO_2 \cdot HCl$ **分子量** 139.58

理化性质 白色结晶。溶于水、乙醇；不溶于乙醚、苯。

理化参数 熔点145～148℃。

制备方法[1] 50g干燥的甘氨酸悬浮于400mL无水乙醇中，加热溶解，通入干燥的氯化氢，边通边回流，直到无固体，置冰浴中通氯化氢到饱和，甘氨酸乙酯盐酸盐逐渐析出，冰箱放置过夜，次日过滤，用无水乙醚洗涤，在氢氧化钠真空干燥器中真空干燥。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

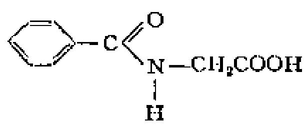
〔1〕 Goodman, M. and Megahren, W. J.; *Tetrahedon*, 23, 2031(1967).

马 尿 酸 Ⅱ-1(2)-0097

Hippuric acid

别名 *N*-苯甲酰甘氨酸 *N*-Benzoylglycine

结构式



分子式 $C_9H_9NO_3$ **分子量** 179.18

理化性质 菱形结晶。微溶于水、乙醇、乙醚、氯仿；不溶于苯、石油醚。

理化参数 熔点187.5℃(分解)。pK^{25} 3.62。$\lambda_{最大}$230nm；ε为10300。

制备方法[1] 3L25%的氢氧化氨溶液于5L圆底烧瓶中，加入溶于100mL的95g一氯醋酸，放置4天，浓缩到600~700mL，转移到3L圆底烧瓶中加入1.5L蒸馏水，再浓缩到小体积，重新加入2L 25%氢氧化铵，以提高产率。再重复上述操作除去氢氧化氨，残存溶液转移到2L烧瓶中，加入溶于100mL的50g氢氧化钠溶液和少量的活性炭，煮沸脱色，过滤除去活性炭，滤液稀释到500mL，冷却到30℃，搅拌下加入150g苯甲酰氯和溶于200mL的80g氢氧化钠溶液，两种溶液都放入分液漏斗中滴加，保持溶液pH呈碱性，约1小时加毕，再搅拌半小时，冷却后加入125mL浓盐酸，产生的沉淀过滤后干燥，得150~160g。用300mL四氯化碳加热煮沸10分钟，冷却后产生沉淀，过滤后，沉淀用50mL四氯化碳洗涤，干燥后得135~140g粗品。用蒸馏水重结晶。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

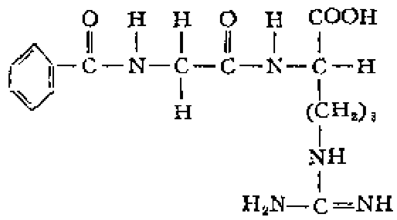
〔1〕 Blatt, A. H. ed.: "Org. Syn. Collective", Vol. 2, John Wiley, 328, 1943.

马尿酰-L-精氨酸 Ⅱ-1(2)-0098

Hippuryl-L-arginine

别名 苯甲酰甘氨酰精氨酸

结构式



分子式 $C_{15}H_{21}N_5O_4$ **分子量** 335.37

理化性质 白色固体。溶于水、甲醇。

理化参数 熔点182~186℃。$[\alpha]_D^{23}-2.8°$(C=2，于甲醇中)。波长在254nm处，由于水解而发生光密度的变化。

制备方法[1] 1.6g马尿酰硝基-L-精氨酸于100mL的甲醇和12mL冰乙酸中，常压下用钯黑作催化剂，催化氢化过夜。次日过滤除去钯黑，滤液真空浓缩成小体积，在甲醇和乙酸乙酯中沉淀，过滤，沉淀在真空中77℃干燥，得1.2g成品，产率90%。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

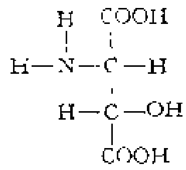
〔1〕 Folk, J. E. and Gladner, J. A.: *J. Biol. Chem.*, 231, 397(1958).

苏-β-羟基天冬氨酸 Ⅱ-1(2)-0099

threo-β-Hydroxyaspartic acid

别名 反-2-氨基-3-羟基丁酸 *trans*-2-Amino-3-hydroxybutyric acid

结构式



分子式 $C_4H_7NO_5$　　**分子量** 149.10

理化性质 具有苏糖构型的DL-化合物为棱柱状结晶。微溶于水；不溶于乙醇。

理化参数 熔点220～260℃(分解)。pK^{25}<2，3.55，8.75。L-型化合物的比旋$[\alpha]_D$ +1.3°(C=3.12，于1mol/L盐酸溶液中)；$[\alpha]_D$ −8.5°(C=1.76于水中)。

制备方法[1] 98.1g马来酸酐于300mL的蒸馏水中，置于1L的三颈瓶中，装上搅拌器，温度计和加液漏斗，而后加入60g氢氧化钠溶于100mL蒸馏水中的溶液和6.6g含有两份结晶水的钨酸钠，在加液漏斗中加入136g30%的过氧化氢溶液，滴加入反应液中，三颈瓶外适当用冰冷却，使反应温度保持在63～65℃，大约15分钟，用5mol/L的氢氧化钠来调节pH，最终使反应液维持到4，整个操作完成约需要1小时，最终反应液体积约为350mL。加入1.5L的丙酮，沉淀过滤得中间体176g。

35g上述顺环氧琥珀酸钠盐和180mL浓氢氧化铵置于圆底烧瓶中，45℃保温48小时，冷却后减压浓缩至干，残渣加入300mL蒸馏水，用6mol/L硝酸调pH至1，加入200mL蒸馏水溶的79.6g乙酸铅（含有三分结晶水），搅拌45分钟，反应液室温放置过夜，次日过滤得铅盐，沉淀用50mL水洗3次。将沉淀悬浮于1L的蒸馏水中，通入硫化氢，直到没有原来的铅盐存在，反应液在80～90℃加热除去H_2S，用过滤法除去硫化铅沉淀，滤液减压浓缩至干，得14g白色固体，用300mL沸蒸馏水溶解，加入乙醇重结晶，过滤干燥后得5.4g。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

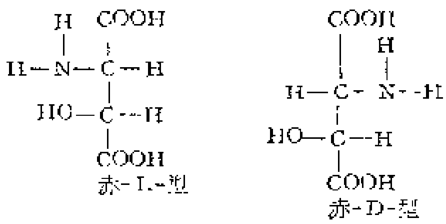
〔1〕 Brown, G. B.;"Biochem. Preps". Vol. 10,70,N. Y. John Wiley & Sons, 1963.

赤-β-羟基天冬氨酸　　Ⅱ-1(2)-0100

erthro-β-Hydroxyaspartic acid

别名 顺-2-氨基-3-羟基丁酸　*cis*-2-Amino-3-hyroxybutyric acid

结构式



分子式 $C_4H_7NO_5$　　**分子量** 149.10

理化性质 具有赤藓糖构型的DL化合物（简称赤DL型）为立方三面体状或单斜结晶。溶于水；不溶于乙醇。

理化参数 熔点225～245℃(分解)。pK^{25}<2，3.55，9.0，赤L型的比旋$[\alpha]_D$53.0°(C=2.46于1mol/L盐酸溶液中)。$[\alpha]_D$ −41.4°(C=2.43于水中)。

制备方法[1] 116.1g顺丁烯二酸悬浮于500mL蒸馏水中，搅拌下滴加入1430mL 5.25%的

次氯酸钠溶液，需要3小时，温室过夜，次日用10%氢氧化钠调节pH至7，加入含有二份结晶水的氯化钡611g，边加边搅拌1小时，加毕后继续搅拌2小时，过滤得沉淀，空气干燥后得250g氯代马来酸钡盐。

151g氯代马来酸钡盐和200mL乙醚置于冰浴中，搅拌下加入90mL浓盐酸，每次加10mL，加毕后，倾泌出乙醚层，加入新的乙醚层抽提沉淀，反复抽提3次，合并乙醚层，用无水硫酸钠干燥，除去硫酸钠后，减压除去已醚，得55g氯代马来酸。

33.7g氯代马来酸和500mL浓氯水混和，室温放置8天，而后加入16.8g氢氧化钠，减压浓缩至干，残渣加入200mL蒸馏水，用6mol/L的硝酸调节pH至1，加入34.2g硝酸银，大约需要30分钟，过滤除去氯化银沉淀，滤液加蒸馏水到约500mL，而后加入含有90g乙酸铝的三份结晶水的溶液200mL，大约需要1小时加完，边加边搅拌，过滤后沉淀用50mL水洗涤3次，沉淀悬浮于1.2L的水中，通硫化氢除去铝，得到清洁的滤液减压浓缩至干，残渣用50mL甲醇洗2次，得24g固体。

提纯方法 130mL沸腾的蒸馏水中溶解上述固体，加入乙醇至微微发生混浊，再滴几滴蒸馏水使溶液变清，室温放置使之缓慢冷却，结晶完全后过滤，干燥得12g产品。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

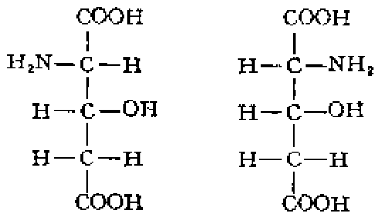
〔1〕 Brown, G. B.: "Biochem. Preps". Vol. 10, 68, N. Y. John Wiley & Sons, 1963.

苏-β-羟基谷氨酸　　Ⅱ-1(2)-0101

Thero-β-Hydroxyglutamic acid

别名 2-氨基-3-羟基戊二酸

结构式



苏-L-型　　苏-D-型

分子式 $C_5H_9NO_5$　　**分子量** 163.13

理化性质 从水中得到无结晶水的晶体为针状结晶。含有3分子结晶水的晶体在100℃可失去结晶水。十分容易溶于热水、乙酸；不溶于乙醇、乙醚。

理化参数 熔点DL-型193～196℃(分解)；L-型203℃(分解)；D-型203℃(分解)。L-型的$[\alpha]_D^{22}+18.8°$($C=2$，于20%盐酸溶液中)。pK^{25}2.27(羧基)，4.29(羧基)，9.66(氨基)。

制备方法[1] 20g丙酮二羧酸二乙酯溶于200mL乙醚中，缓缓通入干燥氯化氢气体，分10次加入乙基亚硝酸盐(8.4mL溶于50mL乙醚中)，加毕反应继续数小时，除去乙醚，加入稀碳酸钠抽提2次，碳酸钠溶液用浓盐酸中和，再用乙醚抽提4次，合并乙醚层用无水硫酸钠干燥，过滤除去沉淀，乙醚蒸发至干，得纯的α-肟基丙酮二羧酸二乙酯。

500g锌粉和400mL乙酸酐和800mL乙酸加入到含有310g的α-肟基丙酮二羧酸二乙酯溶于400mL的乙酸的溶液中，保温10～15℃ 2小时，而后在室温保持3小时，过滤除去沉淀，

滤液真空浓缩至干，加入250mL水和500mL氯仿，水层用氯仿再抽提1次，合并氯仿层，用碳酸钠洗涤再用水洗涤，而后加入无水硫酸钠干燥，过滤除去沉淀，滤液除去溶剂得糖浆状残剩物，加入500mL干燥的热乙醚，溶解后结晶，过滤得沉淀，母液可重复1次再得结晶。重结晶1次，得235g，熔点56℃。

上述化合物129.7g于1300mL水中，在25℃氢化，用Raney镍10g作催化剂，30～40磅压力的氢作用2小时，反应液过滤除去沉淀，滤液真空浓缩成糖浆状，用20mL丙酮溶解加入500mL干乙醚，数小时得*N*-乙酰-β-羟基谷氨酸二乙酯针状和棱柱状结晶，针状为别型可用加热溶解，将针状和棱柱状结晶分离，棱柱状为正型。

35g棱柱状结晶在250mL的10%溴化氢中回流2小时，反应液真空浓缩至干，用水和乙醇溶解，加入苯胺调pH至3，真空浓缩至干，用95%乙醇处理残渣，用少量水溶解，活性炭脱色、缓缓加入乙醇得结晶，产率64%。熔点198℃。针状结晶相同处理，产率84%。熔点193～196℃。

上述别-β-羟基谷氨酸，苄氧羰基化得*N*-cbz-β-OH-gln，用木瓜蛋白酶拆分[2]得苏型和赤型化合物。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

〔1〕 Leanze, W. J. and Pfister, K.; *J. Biol. Chem.*, 201, 377(1953).

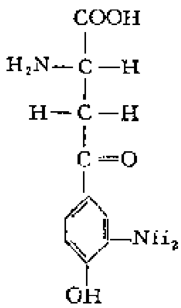
〔2〕 Greenstein, J. P. and Winitz, M.; "Chem of the Amino acids", Vol. 3, N. Y. Wiley, 2423, 1961.

3-羟基-L-犬尿素 Ⅱ-1(2)-0102

3-Hydroxy-L-Kynurenine

别名 3-(3-羟基)邻氨基苯甲酰丙氨酸

结构式



分子式 $C_{10}H_{12}N_2O_4$ **分子量** 224.22

（含有1份结晶水为242.23）

理化性质 从水结晶的为金黄色针状结晶。溶于热水、酸性水溶液；微溶于冷水、甲醇、乙醇。

理化参数 熔点180℃（分解）。$[\alpha]_D^{27}$ -34°（C=0.17，于水中）；$[\alpha]_D^{27}$ +8.5（C=0.17，于0.0152mol/L盐酸溶液中）。紫外吸收光谱λ为368nm。ε_{1cm}4050。

λ267nm E_{1cm}7630

λ228nm E_{1cm}19,000

制备方法[1] 50mL溶液中包含了5mL牛肝葡糖脱氢酶（15,000活力单位/mL），5mL 1mol/L磷酸钾缓冲液pH8.0，90mg辅酶Ⅱ，901mg葡萄糖，54mg L-犬尿素，9.8mg氯化

钾，16mg叠氮钠和25mL线粒体悬浮液。在23℃振荡，每15分钟加入 1mol/L氢氧化钾 调节pH到8.0。在波长为400nm处测定还原辅酶Ⅰ的读数，在反应3小时后，观察其反 应 完全程度，在达到理论值的70～80%时，另外加入12.5mL的线粒体悬浮液，继续反 应到 完全。加入mol/L三氯乙酸调pH至3.5，离心除去沉淀，沉淀用30mL的三氯乙酸洗2次，通过强阳离子(H^+型)柱，10×2.3柱后洗脱的第二峰为别-δ-羟基赖氢酸。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

〔1〕 van Zyl, G. et al; *J. Am. Chem. Soc.*, 73, 1765(1951).

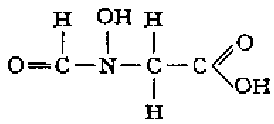
〔2〕 Hamilton, P. B. and Anderson, R. A.; *J. Biol. Chem.*, 213, 249(1957).

N-羟-*N*-甲酰甘氨酸 Ⅱ-1(2)-0103

Hadacidin

别名 *N*-Formyl-*N*-hydroxyglycine

结构式



分子式 $C_3H_5NO_4$ **分子量** 119.08

理化性质 不稳定的结晶。易分解成甲酸和羟基甘氨酸；溶于水、甲醇、乙醇、丙酮和乙醚。

理化参数 熔点119～120℃。元素分析C 30.26%；H 4.23%；N 11.76%。

制备方法 可从青霉素菌培养时分离得到。

用途 抗瘤药物。

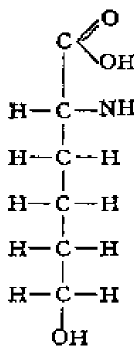
贮存 低温干燥。

D-六高丝氢酸 Ⅱ-1(2)-0104

D-Hexahomasesine

别名 6-Hydroxynorleucine

结构式



分子式 $C_6H_{13}NO_3$ **分子量** 147.17

理化性质 从稀乙醇中得到结晶。溶于水；不溶于乙醇、乙醚。

理化参数 熔点248℃。$[\alpha]_D^{25}$ -23.2°（C=2，6mol/L HCl）元素分析 C48.96%；H 8.90%；N9.52%；O32.61%。

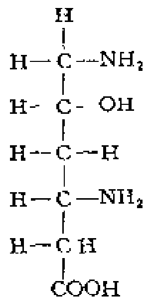
贮存 干燥密闭。

别-δ-羟基赖氨酸 Ⅱ-1(2)-0105

allo-δ-Hydroxylysine

别名 2,6-二氨基-5-别羟基己酸 *allo*-5-Hydroxy-2,6-diaminohexanic acid

结构式



分子式 $C_6H_{14}N_2O_3$ **分子量** 162.19(盐酸盐为198.65)

理化性质 盐酸盐为白色结晶。溶于水；不溶于甲醇、乙醇、丙酮和乙醚。

理化参数 熔点盐酸盐为239～241℃(分解)。$[\alpha]_D^{25}$ L型31.4°（C=2，自由碱基于5mol/L溶液中)。$[\alpha]_D$ L型+10.9°(C=2，自由碱基于水中)。

制备方法[1] 与-δ-羟基赖氨酸的制备完全相同，仅在上柱后犬尿素和三羟犬尿素被吸附在柱顶端，用1L 蒸馏水洗，然后，用1L 0.1mol/L 盐酸洗柱，1mol/L 盐酸洗柱，再用500mL蒸馏水洗，最后用0.2mol/L甲酸铵洗脱，收集黄色流出液，冷冻干燥后为铵盐。而后上弱阳离子柱（H^+型)1.5×0.9cm，样品溶于5mL蒸馏水中，通过柱后，用蒸馏水洗，直至二个黄色级份被洗脱，第二个黄色级份在pH3.5的5mol/L乙酸洗脱，减压浓缩到2mL，过夜次日过滤得10～15mg结晶，产率为20～30%。可在水中重结晶。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

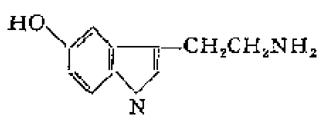
〔1〕 Lardy, H. A.; "Biochem. Preps". Vol. 7, 62, N. Y. John Wiley & Sons, 1959.

5-羟基色胺 Ⅱ-1(2)-0106

5-Hydroxytryptamine

别名 5-羟基-3-(2-氨乙基)吲哚；Serotonin

结构式



分子式 $C_{10}H_{12}N_2O$ **分子量** 176.22

(肌酸酐硫酸盐为405.4)

理化性质 小亮白色的层状结晶；肌酸酐硫酸盐为白色棱柱结晶，含有1份结晶水为片状结

晶；肌酸酐硫酸盐；溶解于水；微溶于甲醇和95%乙醇；不溶于乙醇、丙酮、吡啶、乙醚、苯和氯仿。

理化参数 水中溶解度$\alpha^{27°}$，$10^{100°}$。熔点219～221℃(分解)。pK9.8（胺基），11.1(羟基)。在pH3.5的水溶液中，$\lambda_{最大}$275nm和322nm；在pH7的水溶液中，波长275nm处的$\varepsilon^{1cm}_{275nm}$为5800。

制备方法[1]

1．5-苄氧-3,2′-苯二酸抱亚胺基-乙基吲哚-2-羧酸（1）的合成　对苯氧苯胺150g溶于沸腾的乙醇300mL中，快速加入300mL浓盐酸，450mL水和600g冰。搅拌下加入溶于150mL水中的亚硝酸钠68g溶液，约20分钟完毕，继续搅拌40分钟，整个反应保持在5～10℃，反应完毕加入活性炭脱色。

α-乙酰-δ-苯二酰抱亚胺基戊酸乙酯237g溶于热乙醇1100mL中，冷却后加入无水乙酰钠615g和冰500g，保持5℃搅拌下反应，快速加入过滤的重氯化的对苄氧苯胺的溶液，搅拌下直到反应液升到室温。红色粘滞的油状物用苯抽提（3×450mL)，合并苯层用无水硫酸钠干燥，蒸发至干，用干燥无水乙醇1600mL加热成饱和快速通入氯化氢，用冰冷却，沉淀过滤，用冰乙醇（2×400mL）洗涤沉淀再用水（2×400mL）洗涤沉淀，80℃干燥，得178g。产率51%。针状结晶熔点188～190℃。

2．5-苄氧-3,2′-苯二酰抱亚胺基吲哚（Ⅱ）的合成　中间体（Ⅰ）100g熔化后搅拌于250℃，通入氮气将二氧化碳除去，反应1.5小时，冷却后形成玻璃状固体，溶于甲乙酮（约1000mL)，过滤除去不溶物质，滤液浓缩到300mL，加入900mL热乙醇，冷却后得结晶，过滤后用100mL冷乙醇洗涤沉淀，母液再可回收部分产品，结晶合并后悬浮于1mol氢氧化钠溶液中，沉淀过滤用水洗涤后，再用冷乙醇洗涤，得73g(Ⅱ)，产率84%。灰黄色棱柱晶体。熔点179～181℃。

3．5-苄氧色胺硫酸盐（Ⅲ）的合成　中间体（Ⅱ)32.5g，80%的水合肼15.5mL和乙醇850mL回流2.5小时，在水浴上加热减压浓缩至干，2mol/L的氢氧化钠溶液250mL加入到热的残渣之中，再加入400mL乙醚，在冰中冷却到固体产生，用助滤剂过滤沉淀，乙醚层用水洗涤到无碱性，用1mol/L乙酸溶液150mL加入几滴浓硫酸抽提乙醚层，用冰水洗乙醚直到无酸性，脱色，从水中结晶为无色片状晶体。熔点187～189℃。得20g(Ⅲ)，产率73%。

4．5-羟基色胺的合成　11.6g中间产品（Ⅲ）和0.42g钯炭于180mL乙醇和120ml水中，室温下催化氢化（101325Pa)，氢化完毕。过滤除去催化剂，滤液在氮气中减压蒸发至成薄糖浆状，加入肌酸酐硫酸盐5.95g溶于35mL热水中的溶液，再加入热丙酮250mL，待冷却得结晶，过滤后结晶于80℃干燥，得5-羟基色胺肌酸酐硫酸盐13g，产率93%。熔点217～219℃。除去肌酸酐即得5-羟基色胺。

贮存　避光，干燥密闭贮存。

参考文献

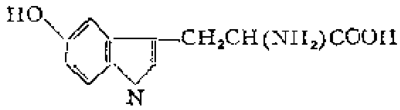
〔1〕 Bretherich, L. et al; *J. Chem. Soc.*, 2919(1961).

5-羟基-DL-色氨酸　　Ⅱ-1(2)-0107

5-Hydroxy-DL-tryptophen

别名　γ-5-羟基吲哚丙氨酸

结构式



分子式 $C_{11}H_{12}N_2O_3$ **分子量** 220.23

理化性质 杆状结晶。溶于水；不溶于石油醚。

理化参数 熔点293～298℃（分解）。溶解度水中5℃为1g/100mL，100℃为5.5g/100mL。

制备方法[1]

1．苄氧基克胺（Ⅰ）的合成 30mL 37%的甲醛，80mL 25%二甲胺水溶液和360mL二氧六环在0～5℃时搅拌下加入360mL冰乙酸，保持反应温度0～5℃，滴加入80.4g 5-苄氧吲哚溶于360mL二氧六环的溶液，30～45分加毕，继续搅拌2小时，然后升到室温过夜，次日加入4500mL水，18g活性炭和10g助滤剂Celite脱色，过滤后，滤液搅拌下加入2mol/L氢氧化钠约3200mL，使溶液pH12～12.5，加入400mL水，产生颗粒固体，5℃过夜，次日过滤后沉淀用4×100mL冷水洗涤，在五氧化磷和氢氧化钾中真空干燥，得88～90g粗品（Ⅰ），产率87～89%。熔点135～138℃。用苯加热溶解和加热正己烷重结晶得84～86g（Ⅰ），产率83～85%。熔点138～140℃。

2．*N*-甲醛-α-二羧酸-5-苄氧基色氨酸乙酯（Ⅱ） 用氢氧化钠处理过的甲苯2000mL，加入84.1g苄氧基克胺和73.2g *N*-甲醛氨基丙二酸二乙酯（皆为无水）。回流温度为140℃，通入氮气，大约回流24小时之内可使二甲胺释放完毕。反应液在110℃过滤，用200mL沸腾的甲苯洗涤沉淀数次。滤液很快结晶出来，5℃过夜，次日过滤，用100mL冷甲苯洗涤沉液，真空干燥后得118～121g Ⅱ，产率90～92%。熔点139～140°。

3．5-苄氧基色氨酸（Ⅲ）的合成 118.4g（Ⅱ）悬浮于12.5mol/L的氢氧化钠1080mL溶液中，回流16小时，完毕后除去热源，在高速搅拌下滴加入225mL浓盐酸，再加入除泡沫剂。在继续搅拌下，再加入2mol/L盐酸135mL，在搅拌下回流1小时。用2mol/L氢氧化钠调节pH5.7～5.9，再回流5分钟，5℃放置过夜，次日过滤。沉淀用冷水洗涤3次，再用冷乙醇洗涤3×100mL。在五氧化磷和氢氧化钾中真空干燥得81～84g（Ⅲ）粗品；产率（97～100%）。熔点274～275℃。重结晶得70～74g（Ⅲ），产率84～88%。熔点277～278℃。

4．5-羟基色氨酸的合成 7.76g（Ⅲ）悬浮于200mL 50%的乙醇，加入1g氧化钯催化氢化，氢压力49磅，通4小时，完毕后，加入1g活性炭脱色，过滤除去沉淀，滤液在还原剂存在下减压浓缩成小体积，加入冷乙醇沉淀可得约5g Ⅳ，产率约91%。

贮存 避光，干燥密闭贮存。

参 考 文 献

〔1〕 Coor, M. J.："Biochem. Preps", Vol. 9, 92, N. Y. John Wiley & Sons, 1962.

亚 牛 磺 酸 Ⅱ-1(2)-0108

Hypotaurine

别名 2-乙氨基亚磺酸。

结构式 $H_2NCH_2CH_2SO_2H$

分子式 $C_2H_7NO_2S$ **分子量** 109.15盐酸盐为145.61

理化性质 盐酸盐白色结晶，干燥后为亮黄色晶体。易溶于水、乙醇、丙酮。

理化参数 熔点171～178℃。pK25 2.16(SO_2H基因)，9.56（氨基)。

制备方法 牛磺酸首先转化成苯二甲酰抱亚胺基乙基磺酰氯（phthalimide ethanesulfonyl chloride)[1]，然后和苯肼反应生成苯二甲酰抱亚胺基乙基磺酰苯肼，加热除去苯肼，加入第三正丁胺的乙醇溶液除去邻苯二甲酰基[2]，用甲基乙酮沉淀，得亚牛磺酸，产率80%。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

〔1〕 Winterbottom, R. et al; *J. Am. Chem. Soc*, 69, 1393(1947).

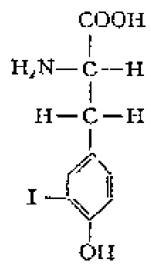
〔2〕 Schumann, I. and Boissonas, R. A.; *Helv. Chem. Acta*, 35 2235(1952).

3-碘-L-酪氨酸 Ⅱ-1(2)-0109

3-Iodo-L-tyrosine

别名 β-（对羟基-3-碘苯）丙氨酸；单碘酪氨酸；MIT

结构式



分子式 $C_9H_{10}INO_3$ **分子量** 307.09

理化性质 无结晶水的为针状结晶。微溶于冷水。

理化参数 熔点204～206℃（分解)。$[\alpha]_D^{25}-4.4°$($C=5$，于1mol/L盐酸溶液中)。pK^{25} 2.2（羧基）8.7（羟基），9.1(胺基)。溶解度，在100℃水中为6.7g/L。

制备方法 100g L-酪氨酸悬浮于37.5mL水中，冷却后在搅拌下缓缓加入265g浓硝酸。得微棕色溶液，等待片刻，升温在25℃以下，4小时后等其黄色结晶产生为3-硝基-L-酪氨酸硝酸盐，过滤，结晶溶于少量热水中，用浓氨水调节pH5～6，得3-硝基-L-酪氨酸。过滤，用冷水洗结晶，重结晶溶于热水中脱色，过滤冷却得$[\alpha]_D^{25}$-3.21（4%HCl溶液中）的产品。

100g 3-硝基-L-酪氨酸溶于400g浓盐酸和350mL水，煮沸溶液加入180g锡粉，过滤除去沉淀，滤液减压浓缩除去盐酸，减压浓缩至干后，用水溶解残存物，通入H_2S气体，除去锡离子，过滤除去沉淀，滤液减压浓缩至干，加入少量水，用2NKOH溶液调节pH6，冷却得结晶，过滤，冷水洗结晶，用热水重结晶，得$[\alpha]_D^{25}-3.61°$(4NHCl溶液中）的结晶为3-氨基-L-酪氨酸。

6g 3-氨基-L-酪氨酸溶于45mL1:5（体积比）的冷硫酸中，加入60mL水，溶液冷却到-2℃。3.51g硝酸钡于60mL水中，加入到上述溶液中去，而后冷却到-2℃～0℃，冷却的溶液加入到含有25g青铜粉悬浮于碘化钾的沸腾溶液中，一边沸腾，一边加入，加完后乘热过滤，滤液用浓氨水调节pH6，减压浓缩至干，残剩物加少量热水溶解，冷却得结晶3-碘酪

氨酸沉淀3.5g。母液可回收到一部分产品，合并后重结晶，共得4.5g产品。

贮存　避光干燥密闭贮存。

备注　DL型熔点为200～201℃（分解）。

参 考 文 献

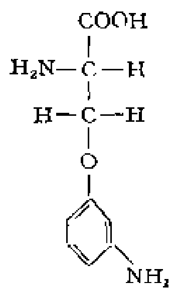
〔1〕 Harington, C. R. and Pitt-Rivers, R.: *Biochem. J.*, 38, 320(1944).

L-犬尿素　　Ⅱ-1(2)-0110

L-Kynurenine

别名　邻氨基苯甲酰丙氨酸

结构式



分子式　$C_{10}H_{12}N_2O_3$　　**分子量**　208.22

（硫酸盐为306.28，含1分子硫酸盐和1分子水的为324.29）

理化性质　从水中得到含有$\frac{1}{3}$结晶水的为叶状结晶；从水-乙醇中得到的为无结晶水的是针状结晶；从水溶液中得到含有1分结晶水的盐酸盐为有色针状结晶。溶于水。

理化参数　熔点191℃（分解），硫酸盐的为190℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}$ -30.5°（$C=1$，于水中）。$[\alpha]_D$ +10.1°（$C=1$，无水硫酸盐，于水中）。在pH7的水溶液中，$\lambda_{最大}$360nm，ε4500；$\lambda_{最大}$275nm，ε7500；$\lambda_{最大}$230nm，ε18900。

制备方法[1]　L-色氨酸1g悬浮于50mL的0.04mol/L磷酸钾缓冲液中（pH8.0），加热溶解，加入100mL假单胞杆菌抽提液和一滴泡沫去除剂，在摇床上于35℃保温振荡，每10分钟用0.2mL 2mol/L的氢氧化钾调节pH保持在7.8。

以280nm和360nm波长处的读数之比值变化表示反应变化程度，大约在3小时后，为理论值的80%。加入2mL的2.5mol/L的硫酸，加热沸水浴上5分钟，冷却后过滤除去沉淀，滤液减压浓缩成10mL，加入约5mL的2.5mol/L的硫酸，沸水浴上加热5分钟，过滤除去沉淀，滤液0℃过夜，次日过滤得结晶沉淀，用冷乙醇再用乙醚洗涤，得约1g产品。用少量稀硫酸溶解，活性炭脱色，可得0.8～1g成品，产率为50～63%。

贮存　避光，干燥密闭。

参 考 文 献

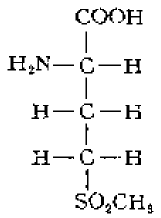
〔1〕 Snell, E. E.: "Biochem. Preps". Vol. 3, 108, N. Y. John Wiley & Sons, 1953.

L-甲硫氨酸砜　　Ⅱ-1(2)-0111

L-Methionine sulfone

别名　α-氨基-γ-甲（基）砜基丁酸

结构式



分子式　$C_5H_{11}NO_4S$　　**分子量**　181.21

理化性质　六角片状结晶。溶于水；不溶于95%乙醇。

理化参数　熔点257～258℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}+23.2$($C=0.5\sim2$，于5mol/L盐酸溶液中)。

制备方法[1]　用甲硫氨酸亚砜作原料，通过等当量的过氧化氢氧化，即可生成甲硫氨酸砜。

贮存　干燥密闭贮存。

备注　熔点DL-型248～250℃（分解）；D-型256～258℃（分解）。$[\alpha]_D-10.0$($C=0.5\sim2$，于水中)。

参 考 文 献

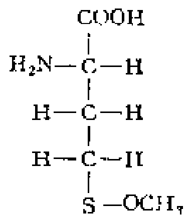
〔1〕 Koneko, T. and Inui, T.; *J. Chem. Soc. Japan*, 76, 306(1955).

L-甲硫氨酸亚砜　　Ⅱ-1(2)-0112

L-Methionine sulfoxide

别名　α-氨基-γ-甲（基）亚磺基丁酸

结构式



分子式　$C_5H_{11}NO_3S$　　**分子量**　165.21

理化性质　白色结晶。溶于水；微溶于乙醇；不溶于丙酮、乙醚。

理化参数　熔点225～231℃（分解）。

L-l-型$[\alpha]_D^{24-26}-71.6°$($C=0.5\sim2$，于水中)。$[\alpha]_D-57.6°$($C=0.5\sim2$，于 5mol/L 盐酸溶液中)。L-d-型$[\alpha]_D^{24-26}+99.0°$($C=0.5\sim2$，于 水 中)。$[\alpha]_D^{25-26}+127.2°$ ($C=0.5\sim2$，于 5 mol/L盐酸中)。

制备方法[1]　29.8g L-甲硫氨酸溶于22mL 10mol/L盐酸和150mL水的 250mL 甲醇的混合溶剂中，将此溶液加入冷的过氧化氢 8.2g，将此溶液加到 500mL水中，25℃保温 3 小时，加入20g 戊胺和250mL甲醇，过滤除去沉淀，滤液加入2400mL丙酮沉淀甲硫氨酸亚砜。

抽滤得沉淀，抽干10分钟，加入丙酮洗涤沉淀，到无氯离子，得29.7g产品，产率90%。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

〔1〕 Lavine, T. F.: *J. Biol. Chem.*, 169, 477(1947).

β-甲基天冬氨酸

Ⅱ-1(2)-0113

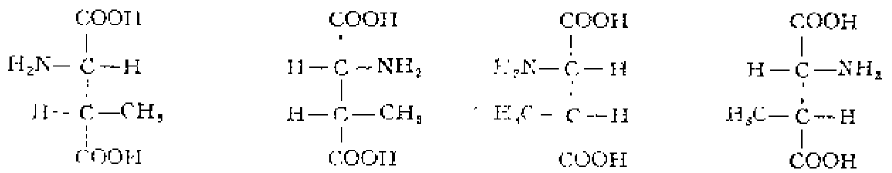
β-Methyl aspartic acid

别名 3-甲基天冬氨酸

结构式 $HO_2CCH(NH_2)CH(CH_3)CO_2H$

分子式 $C_5H_9NO_4$ **分子量** 147.13

理化性质 β-甲基天冬氨酸的构象和光学异构分成二类四种，其结构式如下：



苏-L-型 苏-D-型 赤-L-型 赤-D-型

从水中得到的苏-DL-型为六面棱柱体结晶。从乙醇中得到白色结晶。微溶于水和乙醇；不溶于乙醚和丙酮。

理化参数 熔点苏-DL-型274～275℃；苏-L-型254～256℃。溶解度，在25℃的水中为每100mL 0.5g。苏-L-型$[\alpha]_D^{25}$-12.4°(C=1，于水中)；$[\alpha]_D^{25}$+13.3°(C=3于5mol/L盐酸溶液中)。赤-L-型$[\alpha]_D$24.5°（于水中）；$[\alpha]_D$+42.5°(于3mol/L 盐酸溶液中)。pK 3.5（羧基），9.9（氨基）。有Pauly显色反应。

制备方法[1] 170g N-乙酰氨基氰基乙酸乙酯加入倒用金属镁处理过的1000mL乙醇中，而加入23g金属钠，回流，同时滴加181g α-溴代丙酸乙酯，回流连续4小时，反应液冷却后加入2000mL乙醚，溴化钠沉淀过滤除去，滤液浓缩至干，残渣用750mL氯仿溶解，而后用蒸馏水洗涤2次，每次400mL，用无水硫酸钠干燥氯仿层，过滤除去硫酸钠，真空浓缩成糖浆状，用1000mL 6mol/L盐酸溶解，回流4小时，反应液真空浓缩成小体积，而后加入蒸馏水再真空浓缩成小体积，反复数次，直到氯化氢基本抽尽，浓缩液脱色，用三乙胺调节pH 3.1，用二倍体积的乙醇沉淀β-甲基天冬氨酸，放置后过滤，得65g成品，产率50%。可在水中重结晶。

上述产品乙酰化，生成N-乙酰甲基天冬氨酸，用酰化酶拆分可得L-型和D-型甲基天冬氨酸。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

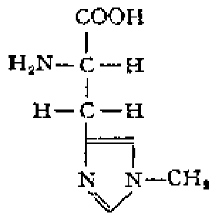
〔1〕 Benoiton, L. et al: *Arch Biochem Biophys.*, 81, 434(1959), Benoiton, L. et al: *J. Am. Chem. Soc.*, 81, 1726(1959).

L-1-甲基组氨酸　　Ⅱ-1(2)-0114

L-1-Methylhistidine

别名　*N*-甲基咪唑基-5-丙氨酸　α-氨基-β-(1-甲基-5-咪唑基）丙酸

结构式



分子式　$C_7H_{11}N_3O_2$　　**分子量**　169.19

（含 1 分子结晶水的为187.21）

理化性质　含 1 分子结晶水为针状结晶。用真空干燥可除去结晶水；溶于水。

理化参数　失结晶水后的熔点为 248～249℃。$[\alpha]_D^{18}$ −25.8°（C=3.9，于 水中）。pK^{25}1.69（羧基），6.48（咪唑基），8.85（胺基）。

制备方法[1]　以*N*-邻苯二甲酰组氨酸甲酯为原料，在二甲基甲酰胺为溶剂的溶液 中 加入碘甲烷产生1-甲基-*N*-邻苯二甲酰组氨酸甲酯，然后，在20%盐酸中 121℃ 水解 7 小时，反应液除去盐酸后，用强阳离子交换柱层析分离，可得1-**L**-甲基组氨酯。

贮存　干燥密闭贮存。

参 考 文 献

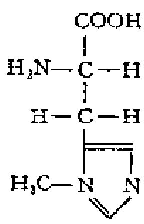
〔1〕 Cowgill, R. W.: *J. Am. Chem. Soc*., 79, 2249(1957).

L-3-甲基组氨酸　　Ⅱ-1(2)-0115

L-3-methylhistidine

别名　3-甲基咪唑基-4-丙氨酸；α-氨基-β-(3-甲基咪唑基)-丙酸

结构式



分子式　$C_7H_{11}N_3O_2$　　**分子量**　169.19

理化性质　白色结晶。溶于水。

理化参数　$[\alpha]_D^{26}$−26.5°(C=2.1于水中)。盐酸盐的$[\alpha]_D^{27}$+13.5(C=1.9于1mol/L盐酸溶液中)。无Pauly显色反应。

制备方法　参阅L-1-甲基组氨酸（Ⅱ-1(2)-0114），仅在柱层析分离时 收 集L-3-甲基组氨酸部分即得产品。

贮存　干燥密闭贮存。

N^{ε}-甲基-DL-赖氨酸　　Ⅱ-1(2)-0116

N^{ε}-Methyl-DL-lysine

结构式　$CH_3NHCH_2CH_2CH_2CH_2CH(NH_2)COOH$

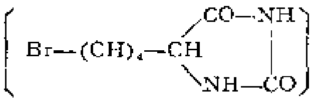
分子式　$C_7H_{16}N_2O_2$　　**分子量**　160.22

（盐酸盐为196.68；含有1分子结晶水的214.70）

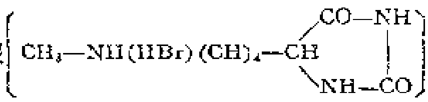
理化性质　白色结晶。易吸湿成糖浆状化合物；从水中得到的盐酸盐化合物，为含有1分子结晶水的针状结晶。溶于水、无机酸。盐酸盐的结晶溶于水、无机酸；不溶于苯；微溶于乙醇。

理化参数　熔点溴化氢盐为234～235℃。

制备方法[1]　以5-δ-溴丁基乙内酰脲



为原料和甲胺作用，室温放置2天即可生成5-δ溴化氢代甲胺丁基乙内酰脲



。将上述中间体置氢氧化钡的水溶液中回流15小时，即可生成N^{ε}-甲基-DL-赖氨酸的溴化氢盐除去溴化氢，得产品。

贮存　干燥密封。溴化氢盐要避光。

参 考 文 献

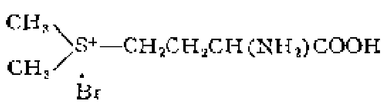
[1] Babineau, L. M. and Berlinguet, L.; *Can. J. Chem.*, 40, 1626(1962).

甲基甲硫氨酸溴化锍　　Ⅱ-1(2)-0117

Methylmethionine sulphonium bromide

别名　甲硫氨酸甲基溴化锍；3-氨基-3-羧基-丙基-二甲基溴化锍

结构式



分子式　$C_6H_{14}NO_2SBr$　　**分子量**　自由阳离子163.2；氯化锍163.2；溴化锍244.2

理化性质　从乙醇-水溶液中得到的溴化物为白色针状或片状结晶。溶于水、乙醚、丙酮。干燥的溴化物受光照后会缓慢分解。

理化参数　熔点140～141℃（分解）。溶解度25℃时甲醇中每100mL溶解0.439g，乙醇中为0.012g。

制备方法[1]　14.9g甲硫氨酸溶于100mL 9mol/L硫酸溶液中加入6mL甲醇回流3小时，反应液用250mL水稀释，用氢氧化钡调节pH2，过滤除去硫酸钡，用稀氢氧化钡溶液调节滤液到pH5，过滤除去硫酸钡，滤液加入15g 30%氟硼酸钡处理，直到硫酸根离子全除去，过滤除去硫酸钡，滤液中可得16.2g甲基甲硫氨酸氟硼化锍。熔点为147～148℃。

0.05mol的溴化钾溶于80ml水中，在搅拌下滴加到12.6g上述中间体溶于20mL水的溶液中，反应完毕后加入100mL乙醇，过滤除去沉淀，滤液在低于50℃减压浓缩成小体积，加入20mL 70%的乙醇，过滤除去沉淀，滤液加入200mL甲醇，再加入丙酮成混浊，0℃过夜，次日过滤，沉淀真空干燥即得产品。可用水-甲醇-丙酮重结晶。

贮存 避光，干燥密闭下贮存。

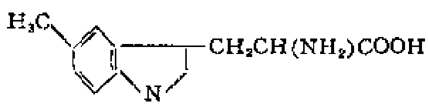
参 考 文 献

〔1〕 Fukui, K.: *J. Org. Chem.*, 25,804(1960).

5-甲基色氨酸 Ⅱ-1(2)-0118

5-Methyl trypophen

结构式



分子式 $C_{12}H_{14}N_2O_2$ **分子量** 218.76

理化性质 白色结晶。溶于水；不溶于乙醇。

理化参数 熔点280～282℃（分解）。

制备方法[1] 对甲苯肼和丙酮酸形成相应的腙，而后通过Fischer吲哚合成法转变成2-乙氧甲酰-5-甲基吲哚，皂化后形成羧基氨盐，加热分解形成5-甲基吲哚，通过Reimer-Tiemann反应（包括氯仿和碱）形成3-醛，再通过Johnson修改过的Enlenmeyer合成法和乙内酰脲作用后的生成物，用钠汞齐催化氢化，即可得5-甲基色氨酸。

贮存 避光，干燥密闭。

参 考 文 献

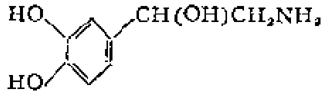
〔1〕 Robson, W.: *Biochem. J.*, 22, 1165(1928).

去甲肾上腺素 Ⅱ-1(2)-0119

Noradrenaline

别名 1-(3,4-二羟苯基)-2-氨基乙醇；4-(α-羟基-β-乙氨基)-儿茶酚；Arterenol；Norepinephrine

结构式



分子式 $C_8H_{11}NO_3$ **分子量** 169.18

（盐酸盐为205.65）

理化性质 带色结晶。溶于无机酸。

理化参数 光谱性质，$\lambda_{最大}$279nm，$\lambda_{最小}$252nm。

制备方法[1]

1. 3,4-二羟基苯甲酮（Ⅰ）的合成 0.7g邻二羟基苯和2.55g无水氯化铝于7.5mL二硫化碳中，40℃加热1小时，滴加0.5g氯乙酰，继续在70℃加热，二硫化碳被蒸馏出来之后温度升高140℃，反应继续3.5小时，得亮棕色固体，用冰冷却后，加入20mL的3mol/L的盐酸溶液，加入5mL冷却的乙酸乙酯，振荡直到固体完全溶解。合并2次乙酸乙酯用1mL水洗2次。从乙酸乙酯层中得的结晶，用苯重结晶后的熔点119.2～119.7℃，

2. 3,4-二乙羧基苯甲酮（Ⅱ）的合成 将1的乙酸乙酯溶液于冰浴中冷却，加入1.66g氢氧化钾溶于24mL蒸馏水的溶液，再加入2.07g乙酸酐于水层之中，加入少量冰之后振荡，将乙酸乙酯层分离出来，用5%碳酸钠洗涤乙酸乙酯层，然后用无水干燥硫酸镁干燥，蒸发除去溶剂后得1.335g 3,4-二乙羧基苯甲酮的黄棕色固体。用少量苯溶解，在水浴锅上蒸发至干，使糖浆状物质，迅速加入沸腾的异丙醚，冷却后可得达于无色的结晶。得0.605g，产率40.3%。熔点为87.8～88.2℃。

3. 3,4-二乙羧基苯-α-溴代甲酮（Ⅲ）的合成 0.41g溴通进0.605g上述中间体（Ⅱ）溶于3.5ml氯仿溶液中，在室温无水的反应条件下，氮气带着溴蒸气同时通入，通毕后反应加温到40℃，真空浓缩除去溶剂，得固体；在异丙酸-乙醇中重结晶，得0.575g（Ⅲ），产率71%。熔点99.2～99.8℃。

4. 3,4-二乙羧基α-邻苯二酰亚胺基苯甲酮（Ⅳ）的合成 0.575g（Ⅲ）和0.37g（过量10%）邻苯二酰亚胺钾盐溶于1mL二甲基甲酰胺的溶液中，水蒸汽加热1分钟，用冰冷却，用氯仿-水抽提，氯仿层用0.2mol/L氢氧化钠洗涤，无水干燥硫酸镁干燥氯仿层，除氯仿后得0.665g粗（Ⅳ）。重结晶用乙醇-乙酸乙酯，得0.36g纯（Ⅳ），产率43.1%。熔点156.8～157.8℃。

5. 去甲肾上腺素的合成 0.64g（Ⅳ）加入1.5mL 12mol/L盐酸和1.5mL冰乙酸在充氮气的管中100℃水解数天，然而用25mL蒸馏水稀释，过滤除去沉淀，清液用钯碳作催化剂，在25℃ 101325Pa的条件下通入氢48mL过滤除去固体，滤液用乙醚抽提除去少量的邻苯二酸，然后蒸发至干，得3.2g结晶，近无色。

贮存 避光，干燥密闭。

参 考 文 献

〔1〕 Howton, D. R. et al: *J. Am. Chem. Soc.*, 77, 2896(1955).

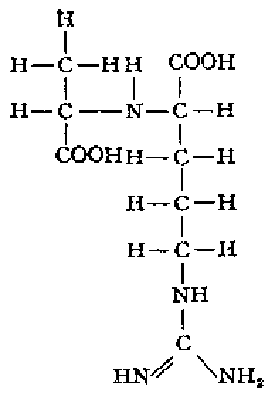
章 鱼 碱

Ⅲ-1(2)-0120

Octopine

别名 *N*-（1-羧乙基）-精氨酸；αα'-亚胺基-（δ-胍基-戊酸）一丙酸；Formealy-L-octopine

结构式



分子式 $C_9H_{18}N_4O_4$ **分子量** 246.27

理化性质 从稀乙醇中得到有色结晶。溶于水；不溶于乙醇、丙酮。

理化参数 熔点262～263℃（分解）（也有报导283～284℃分解）。$[\alpha]_D^{24}$+20.6°（C=1于水中）。$[\alpha]_D^{25}$+20.0°（C=2，于5mol盐酸溶液中）。pK1.36（羧基），2.40（羧基），8.76（胺基），11.3（胍基）。

制备方法[1]

$$CH_3CH(Br)CO_2H + H_2NC[=NH]NHCH_2[CH_2]_2CH[NH_2]CO_2H \longrightarrow$$
$$NH_2C[=NH]NHCH_2(CH_2)_2CH[NHCH(CH_3)CO_2H]CO_2H$$

211g L-精氨酸盐酸盐和306g DL-α-溴丙酸，以及632g氢氧化钡（8分子结晶水）溶于4000mL水中，37℃保温48小时，加入410mL10mol/L硫酸除去钡离子，将溶液加热半小时，过滤除去沉淀（$BaSO_4$），此时滤液的pH为2.6～2.7。加入280g碳酸银，过滤，滤液通入硫化氢气体到饱和，再过滤除去沉淀，滤液减压浓缩至小体积。即可得含约15%精氨酸之粗品，可通过黄安数盐法除去精氨酸，得纯的章鱼碱。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

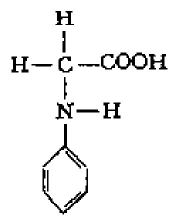
[1] Izumiya, N. et al: *J. Am Chem. Soc.*, 79,652(1957).

N-苯基甘氨酸 Ⅱ-1(2)-0121

N-Phenylglycine

别名 α-氨基苯乙酸 α-Aminophenylacetic acid

结构式



分子式 $C_8H_9NO_2$ **分子量** 151.17

理化性质 白色结晶。溶于醇、酸性水溶液。

理化参数 熔点121～123℃。

制备方法[1]　3g氰化钾和2.5g氯化铵溶于最少量的水中，然后，加到5g苯甲醛中，用足够的甲醇使反应液变清，室温反应5小时后，用乙醚抽提，乙醚层用水洗涤，而后蒸去乙醚，残渣用10%盐酸溶解，缓缓蒸发溶剂得α-氨基苯乙腈盐酸盐，产率60%。此中间体溶于浓盐酸中，加入等体积水后回流2小时，真空减压浓缩至干，残渣用乙醇溶解，用吡啶除去酸性，得纯的产品，用50%乙酸水溶液重结晶。

贮存　干燥密闭贮存。

参 考 文 献

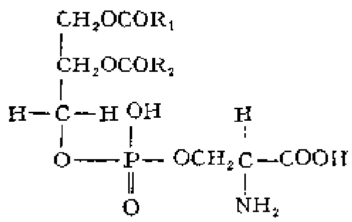
〔1〕 Gagnon, P. E. and Boivin, J. L.; *Can. J. Research*, *B*26, 503(1948).

磷酯酰丝氨酸　　Ⅱ-1(2)-0122

Phosphatidylserine

别名　二酰甘油酰磷酸丝氨醚

结构式

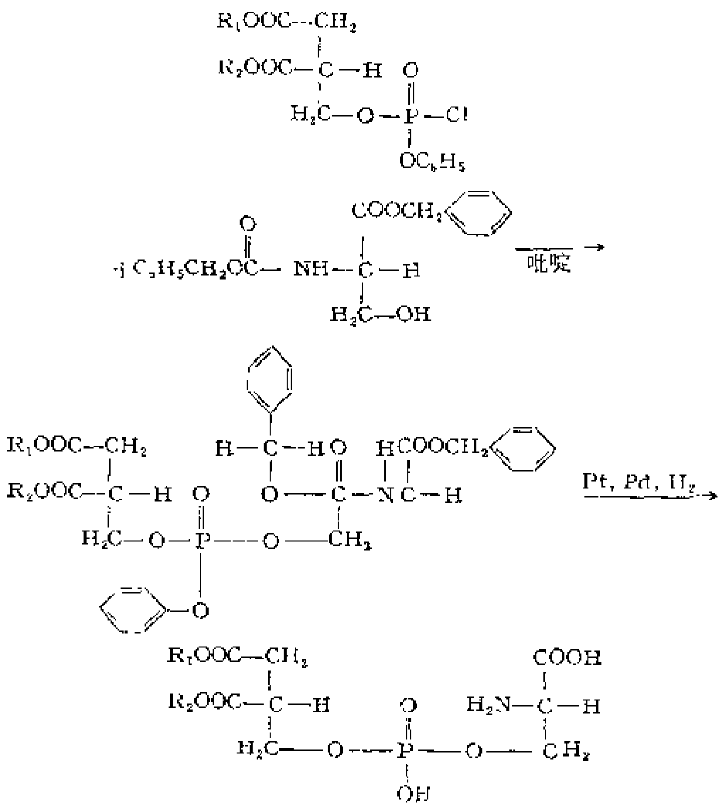


分子式　$C_8H_{12}NO_{10}P+R_1+R_2$　　**分子量**　$313.16+R_1+R_2$

理化性质　白色松散粉末或棕黄色粉末。乳化于水；不溶于乙醇、甲醇、丙酮；溶于氯仿、乙醚，石油醚；合成物仅溶于氯仿。

理化参数　二硬脂酸L-α-型为120℃烧结，159～161℃软化。

制备方法[1]



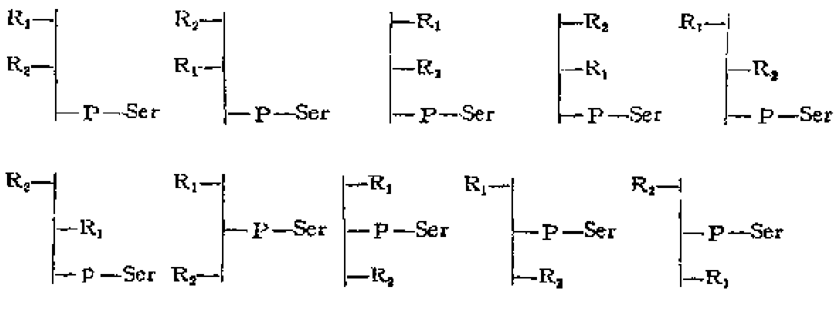
1. O-(十六硬脂酸二酯-L-α-甘油苯磷酸酰)-N-苄氧羰基丝氨酸苄酯(I)的合成　300mL的三颈圆底烧瓶上一颈为油封搅拌，一颈装氯化钙通外界大气，一颈装滴液漏斗，在冰浴中7℃保温，内中放置6.29g新制备的苯基磷酰氯，4.75g无水吡啶和12mL无水乙醇的氯仿，搅拌下滴加18.7gD-十六硬脂酸溶于150mL氯仿的溶液，滴加超过25分钟完毕，继续搅拌15分钟，除去冰浴升温到25℃，1小时后，加入9.5mL无水吡啶，几分钟后加入9.5gN-苄氧羰基-L-丝氨酸苄脂，继续搅拌到溶液变清。

室温下搅拌20小时后在35～40℃减压真空浓缩除去吡啶，固体用100mL沸腾的乙醚抽提，离心除去沉淀，沉淀再用100mL乙醚抽提，合并两次抽提液，用130mL0.05mol/L的硫酸溶液洗涤乙醚层共3次，再用100mL水洗涤2次，用无水硫酸钠干燥，除去沉淀后，真空减压浓缩，残渣用250mL沸腾的石油醚处理，离心取清液，用370mL石油醚稀释，室温放置1.5小时，用离心除去油状物，清液置冰浴中放置3小时，冷却的反应液迅速离心，沉淀用40mL冷的石油醚洗涤1次，固体在氢氧化钠的干燥器内真空干燥，得21.6g。加入130mL 99%的乙醇，水浴上保持56±2℃，搅拌15分钟，离心后，沉淀再用乙醇同法处理1次，合并两次抽提液，室温保持6小时，固体过滤得到，用乙醇重结晶1次，得12.7g，加入185mL丙酮在25℃保温搅拌10分钟，离心取清液，沉淀再用65mL丙酮处理，合并两次抽提液，减压真空浓缩得固体，再用石油醚溶解，除去溶剂后的固体在氢氧化钠干燥器中真空干燥，得10.9g产品。熔点58.5～59.5℃。$[\alpha]_{D}^{25}+8.45$($C=7$，于乙醇中)。

2. O-十六硬脂酸二酯-L-α-甘油磷酸酰-L-丝氨酸(Ⅱ)的合成　新制的2.2g氧化铂和2.2g钯黑和50mL的冰乙酸，振荡下在101325Pa下，通入1L氢，大约要40分钟能除去氮气，倾泌除去乙酸，催化剂用100mL的冰乙酸洗涤3次。10.9g中间体（I）加入到275mL热冰乙酸中，用氢气除去氮气，反应液在25℃下振荡中通入，压力为900Pa(50厘米水柱)，大约需要通入11小时，反应液离心，沉淀用沸腾氯仿110mL抽提，合并2次抽提液，在30～35℃减压真空浓缩至干，然后依次用80mL的冰乙酸、水、丙酮和乙醚处理，得6.70g，用氯仿和乙酸（22:1体积比）处理，离心除去沉淀，清液加入330mL的乙醚室温过夜，次日离心得沉淀，用少量乙醚洗涤1次，沉淀用氢氧化钠的真空干燥器干燥，得5.45g(Ⅱ)，产率为22.9%。

贮存　干燥密闭贮存。

备注　此化合物有多种异构体：



如果R_1R_2之中还有不饱和键，则异构体中需增加顺式与反式，因此异构体的数目还要增加。

参 考 文 献

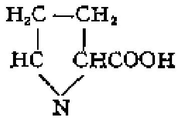
〔1〕 Bae-, [. and Maurukao, ,. : *J. Biol. Chem.*, 212,25(1955).

Δ′-二氢吡咯-5-羧酸 Ⅲ-1(2)-0123

Δ′-pyrroline-5-carboxylic acid

别名 1-吡咯-5-羧酸

结构式



分子式 $C_5H_7NO_2$ **分子量** 113.12

(盐酸盐为149.58)

理化性质 盐酸盐为白色结晶。溶于无机酸、水、乙醇，不溶于丙酮。

理化参数 熔点150℃碳化。

制备方法[1] 10.6gΔ′-二氢吡咯-5-羧酸-γ，γ-二乙酸-r-乙酰胺丁醛和3mL新蒸的苯甲醛溶于200mL95%的乙醇中，再加入2mL冰乙酸，回流15到25分钟，然后在40℃真空浓缩，得油状物，用100mL蒸馏水抽提，合并2次抽提液，在40℃真空浓缩到1～2mL，用50mL6mol/L的盐酸溶液稀释，而后回流20分钟，取出用6倍的蒸馏水稀释，上强阳离子柱(120×30mm)，用200mL水和200mL0.01mol/L盐酸通过，然后用0.5mol/L盐羧洗脱，收集20管，每管50mL，用邻氨基苯甲醛来检测含有Δ′-二氢吡咯-5-羧酸的管子，合并之后冷冻干燥，得淡黄或绿色的粗品，溶解后，用脱色剂脱色，再冷冻干燥，得白色固体，取出后用无水丙酮小体积地多洗涤几次，在氯化钙干燥器中真空干燥，得产品。

贮存 +5℃ 干燥密闭。

备注 此产品+5℃放置2年不变质。

参 考 文 献

〔1〕 Strecker, H. J.: *J. Biol. Chem.*, 235, 2045(1960).

肌 氨 酸 Ⅲ-1(2)-0124

Sarcosine

别名 *N*-甲基甘氨酸 *N*-methylglycine

结构式 CH_3NHCH_2COOH

分子式 $C_3H_7NO_2$ **分子量** 89.10

理化性质 从稀乙醇中得到易吸湿的白色菱形结晶。溶于水中；微溶于乙醇；不溶于乙酸。

理化参酸 熔点212～215℃(分解)。pK2.21(羧基)10.20(胺基)。

制备方法[1] 2000mL 30%的甲胺水溶液在搅拌下缓缓滴加47.5g一氯乙酸溶于30mL水的溶液，24小时后，反应液真空浓缩成薄糖浆状，加入无水乙醇使体积到240mL，在-10℃保持15小时，过滤得到沉淀，用225mL无水乙醇溶解，在-10℃保持到结晶完全，过滤后再用95%乙醇重结晶2次，可得精品4.5g，产率90%。

贮存 干燥密封贮存。

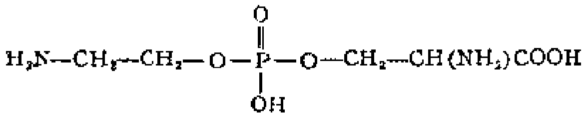
参 考 文 献

〔1〕 Blicke, F. F. and Norris, P. E.: *J. Am. Chem. Soc.*, 76, 3213(1954).

DL-丝氨酸乙醇胺磷酸二酯 Ⅱ-1(2)-0125

DL-Serine Ethanolamine phosphodiester

结构式



分子式 $C_5H_{13}N_2O_6P$ **分子量** 228.14

理化性质 从乙醇水溶液中得到为无色菱柱状结晶。易溶于水。

理化参数 熔点193～194℃（分解）或180～181℃（分解）。p*K*2.65，5.91，9.99。红外吸收峰3400，2940，2640，2340，2090，1640，1580，1530，1 460，1415，1368，1344，1313，1304，1238，1212，1185，1166，1137，1075，1037，1011，993，932，914，885，831，789，和752cm^{-1}。

制备方法[1,2] DL-型的合成方法可参阅 Joner and Lipkin 的方法。L-型的合成可通过8.24g *N*-苄氧羰基-L-丝氨酸苄酯[2]和等量的单苯膦酸二酰氯反应，通过强阳离子柱提纯可得1.34g产品，产率23.4%。

贮存 干燥，密闭，阴凉贮存。

备注 L-型的为易潮解的针状结晶。熔点142～143℃。$[\alpha]_D^{23.5}-14.8°$（*C*＝0.811，于水中）。

参考文献

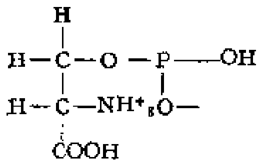
〔1〕 Jones, E. E. and Lipkin, D.; *J. Am. Chem. Soc.*, 78, 2408(1956).
〔2〕 Baer, E. and Maurukas, J.; *J. Biol. Chem.*, 212, 25(1955).

磷酸丝氨胺 Ⅱ-1(2)-0126

Phosphoserine

别名 丝氨酸-*O*-磷酸酯；Serinphosphate

结构式



分子式 $C_3H_8NO_6P$ **分子量** 185.07

理化性质 从水与乙醇中得到白色结晶。溶于水；不溶于乙醇与醚。

理化参数 熔点为165～166℃（分解）。$[\alpha]_D+7.2°$（于水中）。p*K*2.65(羧基)，5.91（磷酸根），9.99(氨基)。元素分析N为7.57%，P为16.7%。

制备方法[1] 117g的氧氯化磷滴加到45mL的水中，1小时加毕，在搅拌下加入26.25g丝氨酸，并且加热到60℃，15分钟加毕，在20分钟后可完全溶解，清晰的反应液在60℃保持2小时，而后在冷却下加入18mL蒸馏水，边加边搅拌，加入75mL1mol/L盐酸和在沸水浴中加热20分钟，溶液冷却到室温，滴加入200mL的95%乙醇，需要10分钟以上，而后加入

100mL的乙醚，在3℃过夜，滴加入100mL的95%乙醇，需要5分钟以上，在3℃放置8小时，结晶过滤，用200mL95%乙醇和100mL乙醚洗涤结晶，除去乙醚后干燥得35.6g产品，产率77%。

重结晶用水溶解后加乙醇结晶，产率为67%。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

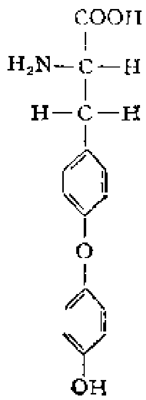
〔1〕 Vestling, C. S.; Biochem. Preps. Vol. 6,75,N. Y. John Wiley & Sons, 1958.

L-甲状腺原氨酸 Ⅱ-1(2)-0127

L-Thyronine

别名 *O*-对羟（基）苯基酪氨酸

结构式



分子式 $C_{15}H_{15}NO_4$ **分子量** 273.29

理化性质 白色结晶。溶于酸性水和乙醇。

理化性质 熔点249℃(分解)（也有报导260～280℃分解）。$[\alpha]_{5461}+13.3°$（$C=1$于1:1的1mol/L盐酸溶液和乙醇之溶液中）。

制备方法[1] 1.6g $H_2N-C_6H_4-O-C_6H_4-CH_2-CH(NHCOC_6H_5)CO_2H$，（此原料可从*N*-苯甲酰酪氨酸乙酯和3,4,5-三碘硝基苯为起始反应原料合成），加热溶于42.5mL0.3mol/L盐酸溶液中，清液冷却，加入0.3g亚硝酸钠在0℃搅拌溶解后，保持15分钟，而后将反应液回流1.5小时，加入浓盐酸，回流6小时，除去氨基上的保护基团苯甲酰成为苯甲酸，冷却反应溶液，并稀释，用乙醚抽提水层除去苯甲酸，水层减压浓缩至干，残渣加入20mL热蒸馏水，在热的溶液中加入醋酸钠处理溶液，可得约0.5g L-甲状腺原氨酸结晶。在稀硫酸中重结晶并加入乙酸钠。

贮存 干燥密闭贮存。

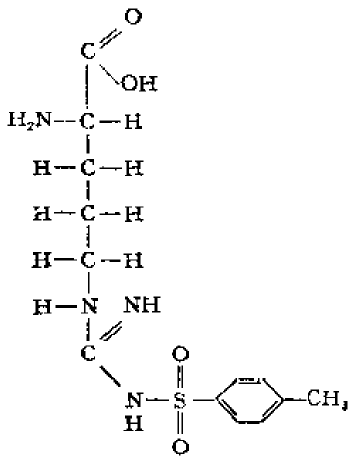
参 考 文 献

〔1〕 Canzanelli, A et al; *Biochem. J.*, 28,68(1934).

N^{ω}-对甲苯磺酰-L-精氨酸　　Ⅱ-1(2)-0128

N^{ω}-Tosyl-L-arginine

结构式



分子式　$C_{13}H_{20}N_4O_4S$　　**分子量**　382.45

理化性质　白色结晶。溶于甲醇、乙醇、热水；微溶于水。

理化参数　熔点146～150℃。$[\alpha]_D$ - 5.5(C=1.3甲醇)

制备方法[1]　34.5gN^{α}-苄氧羰基-N^{ω}-苯磺酰-L-精氨酸的干燥粉末，加入到85mL含有40%溴化氨的乙酸中，边加边搅拌，使其快速地充分溶解，继续搅拌有微小气泡产生，通过氯化钙干燥管排出，1小时之后用水泵压抽去溴化氢乙酸溶液，沉淀用干乙醚充分研磨洗涤，倾去乙醚，反复数次至醚层呈淡黄色，加入250mL蒸馏水使其溶解，溶液再用乙醚抽提数次，直到水层无黄色，水层用4mol/L氢氧化钠调节中性,有白色沉淀产生，水箱过夜，次日过滤，用少量冰冷的水洗涤2次，干燥后得22g成品，熔点为82～86℃，再用125mL热蒸馏水溶解重结晶，可得熔点为146～150℃的精品。

用地[2]　固相接肽的单体。

贮存　干燥密闭贮存。

参　考　文　献

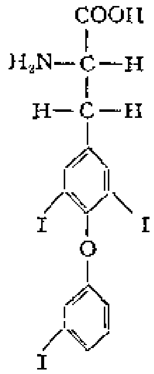
〔1〕 Ramachandman, J. et al: *J. Org. Chem.*, 27 4006 (1962).
〔2〕 Kiso, Y. et al: *Chem. Commun.*, 1063(1980).

3,5,3'-三碘甲状腺原氨酸　　Ⅱ-1(2)-0129

3,5,3'-Triiodo-L-thyronine

别名　T_3

结构式



分子式 $C_{15}H_{12}I_3NO_4$ **分子量** 650.98

理化性质 盐酸盐为针状结晶。溶于碱性水中；微溶于水。

理化参数 熔点盐酸盐为 202～203℃；非盐酸盐的为 233～234℃（分解）。$[\alpha]_D^{21}$ + 23.6°（C=5，于1mol/L盐酸和乙醇 1:2 溶液中）。pK2.2（羧基），8.40(羟基），10.1（胺基）。$\lambda_{最大}$ 295nm，ε4090（于0.04N 盐酸溶液中）；$\lambda_{最大}$320nm，ε4660（都于稀氢氧化钠溶液中）。

制备方法 14mg的3-碘-甲状腺原氨酸溶于20mL浓氨水中，缓慢地加入27mg溶于5mL乙醇的溶液，20℃保温 1 小时之后，将反应液浓缩成5mL用稀乙酸调节 pH15.0，有沉淀产生，过滤，取出沉淀，悬浮于1mL乙醇中，加入 1mL1mmol 氢氧化钠溶液中，振荡溶解，不溶物离心除去，清液用稀乙酸调节 pH 5.0，而后将溶液在水浴上加热，待溶解后迅速冷却，溶液中的少量不纯物可通过离心除去，加入5mL冷蒸馏水至上清液中去，析出产品。

贮存 避光，干燥密闭贮存。

备注 T_4为3，5，3′，5′-四碘甲状腺原氨酸。T_3与T_4都是免疫试剂。

参 考 文 献

〔1〕 Gross, J. and Pitt-Rivers, R.: *Biochem. J.* 53, 645(1953).

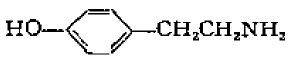
酪 胺

Ⅱ-1(2)-0130

Tyramine

别名 对（β-氨基乙基）苯酚 p-(β-Amino ethyl) phenol；4-羟基苯基乙胺 4-Hydroxyl Phen ylamine；干酪胺；干酪毒素；台尔明；Tocosine；Tyrosamine；Uteramine；Systogene

结构式



分子式 $C_8H_{11}NO$ **分子量** 137.18；盐酸盐为173.64。

理化性质 从苯中得到针状或叶状结晶。溶于乙醇、苯、少量溶于水；微溶于乙醚、氯仿、热二甲苯。

理化参数 熔点166℃盐酸盐的为269℃。pK9.3，10.4。

制备方法[1] 可从酪氨酸直接脱羧制得。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

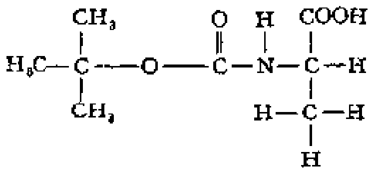
〔1〕 Buck J. S.: *J. Am. Chem Soc.*, 55, 3389(1933).

N-叔丁氧羰基-L-丙氨酸 Ⅱ-1(2)-0131

N-t-Butyloxycarbonylalanine

别名 Boc-Ala

结构式



分子式 $C_8H_{15}NO_4$ **分子量** 189.21

理化性质 颗粒状细结晶。不溶于水、石油醚，溶于乙酸乙酯。

理化参数 熔点80～83℃。$[\alpha]^{20}_{546}$ -30°(*C*=2，乙酸中)。

制备方法[1] 89g丙氨酸(1mol)悬浮于200mL二氧六环和200mL水中，加入143g叔丁氧羰叠氮(1mol)，在30～35℃搅拌，并用4mol/L氢氧化钠调节pH8～9，反应约2天，消耗4mol/L氢氧化钠约520mL，当pH不变后再搅拌3小时，用乙酸乙酯抽提3次，除去残剩的叔丁氧羰叠氮($BOCN_3$)，在冰浴中冷却水相，并用6mol/L氯化氢溶液酸化，使pH3～4，加入固体氯化钠，使溶液达饱和，再用乙酸乙酯抽提3次，合并乙酸乙酯抽提液，以饱和氯化钠溶液洗有机相，使乙酸乙酯层近中性（即洗到饱和氯化钠溶液的pH在6）；然后用无水硫酸钠干燥过夜，过滤除去固体，在减压浓缩装置中将乙酸乙酯浓缩到150mL左右，滴加石油醚（沸程30～60℃)100mL左右，出现浑浊，稍稍滴加后有细颗粒结晶产生，轻轻振动过夜，防止结块，待结晶完全后过滤，结晶真空低温干燥，得产品157g成品，产率83%。

贮存 干燥密封保存。

用途 常用于合成多肽。

参 考 文 献

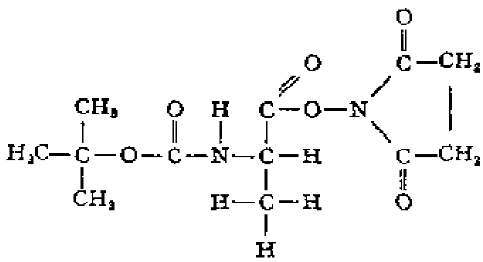
〔1〕 Anderson, G. W. and Mcgreger, A. C.: *J. Am. Chem. Soc.*, 79, 6180(1957).

叔丁氧羰基-L-丙氨酸-*N*-羟基琥珀酰亚胺酯 Ⅱ-1(2)-0132

N-t-Butyloxycarbonylalanine-*N*-hydroxysuccinimide ester

别名 Boc-Ala-ONSu

结构式



分子式 $C_{12}H_{18}N_2O_6$ **分子量** 286.29

理化性质 白色结晶。溶于甲醇、异丙醇、四氢呋喃。

理化参数 熔点160～162℃。$[\alpha]_{546}^{20}-79$℃ ($C=2$，甲醇中)。$[\alpha]_D^{20}-62\pm1$($C=2.5$，二氧六环)

制备方法[1] 11.4g的叔丁氧羰基丙氨酸 (60mmol) 溶于50mL四氢呋喃中，加入6.9g羟基琥珀酰亚胺，振摇溶解后，滴加二环己基碳二亚胺 (DCCI) 13.6g溶于20mL四氢呋喃的溶液，边加边轻轻振摇，加毕后略振摇数分钟，放置过夜，次日过滤除固体沉淀二环己基脲 (DCu)，用少量干燥的乙酸乙酯洗涤DCu(二环己基脲)，滤液合并浓缩至小体积，加入50mL无水乙醚，立即有结晶析出，放置过夜，过滤得叔丁氧羰基丙氨酸琥珀酰亚胺脂母液浓缩成更小体积，再加入无水乙醚，又可得部分结晶，总共可得12.6g产品。可在异丙醇中重结晶。

贮存 干燥密封短期保存。

参 考 文 献

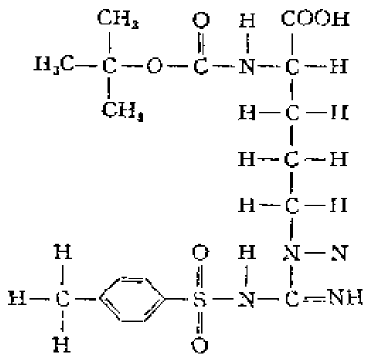
〔1〕 Anderson, G. W. et al; *J. Am. Chem. Soc.*, 86, 1839(1964).

N^α-叔丁氧羰基-N^ω-苄磺酰-L-精氨酸 Ⅱ-1(2)-0133

N^α-*t*-Butyloxycarbonyl-N^ω-tosyl-L-Arginine

别名 *N*-Boc-*N*-Tos-Arg

结构式



分子式 $C_{18}H_{28}N_4O_6S$ **分子量** 428.51

理化性质 白色固体。不溶于石油醚；溶于热乙酸乙酯、二甲基甲酰胺。

理化参数 熔点 45～60℃，$[\alpha]_D^{20}-3.6$($C=4$，二甲基甲酰胺中)。

制备方法[1] 新鲜制备的 N^ω-TOS-Arg 7.6g悬浮于30mL水和二氧六环 (1:1) 的溶液中，在搅拌下加入3.6mL叔丁氧羰基叠氮以4mol/L氢氧化钠溶液维持pH在9～10，需反应两天约用15mL，氢氧化钠溶液。反应后用乙酸乙酯抽提4次，除去残剩的叔丁氧羰基叠氮，水相用2mol/L盐酸溶液酸化到pH3，用乙酸乙酯抽提3次，合并后，以5%氯化钠溶液洗涤乙酸乙酯层到pH5，用无水硫酸钠干燥，过滤除去硫酸钠，减压浓缩除去乙酸乙酯，蒸发干后得油状物，油状物加热溶解于乙酸乙酯中，冷却后慢慢加入石油醚，并加入晶种，加速其结晶，放置数天后得结晶，过滤，结晶用乙酸乙酯再溶解，加入石油醚重新结晶，得7.5g成品，产率75%。

贮存 干燥密封贮存。

参 考 文 献

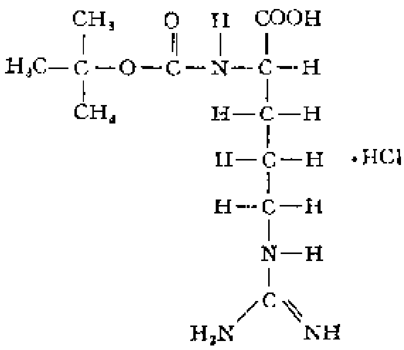
〔1〕 Ramachandran, J.: *J. Org. Chem.*, 27, 4006 (1962).

N-叔丁氧羰基-L-精氨酸盐酸盐　　Ⅱ-1(2)-0134

N-*t*-Butyloxycarbonyl-L-arginine hydrochloride

别名　Boc-Arg HCl

结构式



分子式　$C_{11}H_2N_4O_4 \cdot HCl$　　**分子量**　273.31

理化性质　白色固体。

理化参数　熔点　118～120℃（分解）。$[\alpha]_D^{20}$ －8.1(*C*＝4，乙酸中)。

制备方法[1]　21g精氨酸盐酸盐（100mmol）加热溶解于15mL水中，冷却后加入14mL二氧六环，并加入15.7g叔丁氧羰基叠氮而后，再加入25mL 4MOL/L氢氧化钠溶液，反应液逐渐变黄，用4mol/L氢氧化钠维持pH10，反应5小时约用40mL 4mol/L氧化钠，当pH不变后，再反应2小时待pH不变，放置过夜，次日用乙醚抽提3次，水层在水浴中冷却加6mol/L氧化氢40mL调节pH2～3，加入晶种，慢慢地会析出结晶，放置冰箱过夜，次日过滤，以冷水洗3次，再用冷乙醇洗3次，乙醚洗3次，干燥后得19.8g成品。

贮存　干燥密封保存。

参 考 文 献

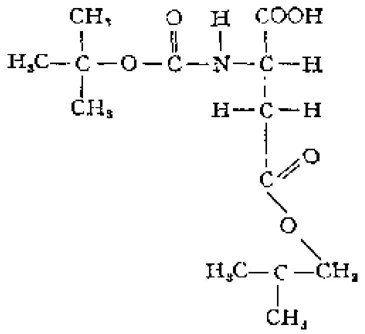
〔1〕 Roechi, R. et al.: *Gazz. Chim. Ital.*, 93, 823 (1963).

N-叔丁氧羰基-β-*O*-天冬氨酸叔丁酯　　Ⅱ-1(2)-0135

N-*t*-Butyloxycarbonyl-*β*-*O*-aspartic acid-*t*-butyl ester

别名　*N*-Boc-Asp-*β*-OB；叔丁氧羰基-4-叔丁酯天冬氨酸

结构式



分子式 $C_{13}H_{23}NO_6$　　　　**分子量** 289.33

理化性质 白色固体。溶于二甲基甲酰胺、甲醇；不溶于石油醚、乙醚、水。

理化参数 熔点 63～64℃。$[\alpha]_D^{20}-21.7°$（$C=1$，二甲基甲酰胺中），$[\alpha]_D^{20}-30°$（$C=1$，甲醇中）。

制备方法[1] 1. N-苄氧碳基天冬氨数-γ-叔丁酯-α-甲酯（Ⅰ）的制备 101gN-苄氧羰基天冬氨酸-α-甲酯溶于780mL含有9.8mL浓硫酸的二氯甲烷溶液中，反应液置耐压抽滤瓶中，在盐冰浴中冷却，通入异丁烯，使体积达到800mL瓶口扎紧，室温20℃反应一周，复置盐冰浴中冷却1小时后开封，通入干燥空气，除去异丁烯，6小时后，总体积剩下1/4时，于分液漏斗中用乙醚抽提4次，用冷的5%碳酸氢钠溶液洗2次，要使水层pH为8，再用氯化钠洗2次，而后用无水硫酸钠干燥，次日过滤除去沉淀，滤液浓缩成小体积，有短针状结晶析出，得116.2g(Ⅰ)。

2. 天冬氨酸-γ-叔丁酯（Ⅱ）的制备 将30g中间体（Ⅰ）溶于200mL甲酯中，过滤除去少量不溶物，加1g钯碳催化剂，通氢1小时以上催化氢化，过滤除去催化剂，滤液缩至干，而后在稀氢氧化钠溶液中皂化除去甲酯，得天冬氨酸-γ-叔丁酯。

3. 2g天冬氨酸-γ-叔丁酯加15mL二甲基甲酰胺（DMF），2mL水和2.5mL三乙胺中，加入5.6g叔丁氧碳基叠氮，35℃振荡48小时，待全部溶解后，减压浓缩除去DMF和三乙胺，用稀盐酸酸化后，用乙酸乙酯抽提3次，合并有机层，用5%氯化钠洗有机层到近中性，用无水硫酸钠干燥过夜，次日过滤，滤液浓缩成小体积，即得产品。

贮存 干燥密闭贮存。

备注 也有报导熔点为106℃

参 考 文 献

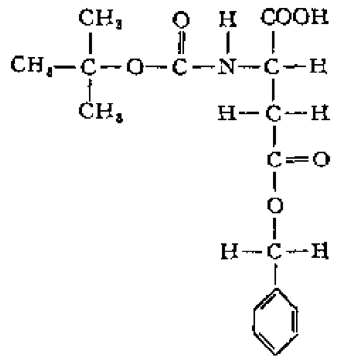
〔1〕 Schroder, E. and Klieger, E. : *Ann. Chem.*, 673, 208 (1964).

N-叔丁氧羰基-L-天冬氨酸-4-苄酯　　Ⅱ-1(2)-0136

N-*t*-Butyloxycarbonyl-L-aspartic acid-4-Benzyl ester

别名 N-Boc-Asp-β-OBzl；N-叔丁氧羰基-4-苄酯-L-天冬氨酸

结构式



分子式 $C_{16}H_{21}NO_6$ **分子量** 323.35

理化 白色结晶。溶于二甲基甲酰胺；不溶于乙醚和水。

理化参数 熔点 100～103℃，$[\alpha]^{20}_{546}-23°$，$[\alpha]^{20}_{D}-19.5$（$C=2$,二甲基甲烯胺中）。

制备方法[1]

1．ASP-β-OBZl的制备 200mL 干乙醚置于1L三颈瓶中，在封闭的系统中，冷却到5～7℃，滴加20mL浓硫酸，再滴加入200mL新蒸苯甲醇，加毕后，搅拌15分钟，而后在室温下边搅拌边抽去乙醚，在激烈搅拌下逐步加入26.6g天冬氨酸，至全部溶解，再搅拌24小时，次日在冰浴下加入400mL 95%乙醇，并滴加新蒸的吡啶100mL，继续搅拌至混浊，冰箱过夜，次日过滤，尽可能的除去溶剂，待干后得白色沉淀，用2倍当量的吡啶及380mL水加热煮沸，用预热的布氏漏斗趁热过滤，除去少量不溶物，过滤液中有部分白色片状结晶析出。室温放置过夜，次日过滤得23g产物，熔点216～217℃。

2．BOC-ASP-4-OBZl的制备，5gAsp-OBZl于20mL的二氧六环和水（1∶1）的溶剂中悬浮，50℃中搅拌，加入3.5mL $BOCN_3$溶于5mL二氧六环的溶液中，另加入6.3mL三乙胺溶于5mL二氧六环的溶液，反应液呈黄色溶液，pH为8.6左右，搅拌24小时，当pH不再变化后，用乙醚抽提除去残剩的$BOCN_3$，乙醚层合并，用水反抽提1次，并入水相，用柠檬酸2.76g酸化到pH4～5，用乙酸乙酯抽提3次，合并乙酸乙酯层，用5%氯化钠洗有机层2～3次，以无水硫酸钠干燥，次日减压除去乙酸乙酯可得固体粉末。或不除去乙酸乙酯,加入2.8mL环已胺，立即有白色沉淀产生，过滤干燥后得5.6g成品。

贮存 干燥密闭保存。

参 考 文 献

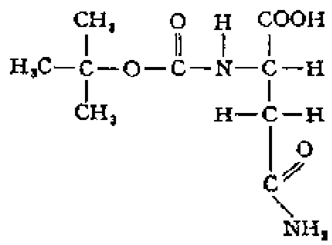
〔1〕 Bayer, E. et al: *Tetrahedron*, 24, 4853 (1968).

N-叔丁氧羰基-L-天冬酰胺 Ⅱ-1(2)-0137

N-t-Butyloxycarbonyl-L-asparagine

别名 N-Boc-Asn

结构式



分子式 $C_9H_{16}N_2O_5$ **分子量** 232.24

理化性质 白色结晶。不溶于石油醚；溶于二甲基甲酰胺。

理化参数 熔点 175～180℃（分解）。$[\alpha]_{546}^{20}-9$（$C=2$，二甲基甲酰胺中）。

制备方法[1] 22.5g天冬酰胺单结晶水，悬浮于125mL 水中，加入 21.5mL 三乙胺（等当量），搅拌混均后加入125mL 二氧六环和 25 gBocN_3（过量10%），40℃保温，以三乙胺维持pH9.5～10（约用去三乙胺35mL），反应 5 小时后，降温至30℃保持反应液过夜。天冬酰胺颗粒在反应过程中会逐渐减少，最终会全部消失。减压抽去二氧六环，用乙酸乙酯抽提4次，除去过量的BocN_3。水相用1mol/L柠檬酸180mL酸化，有白色结晶析出，在冰浴中冷却 2 小时后，过滤、固体干燥后以90mL 95%乙醇及30mL水，在水浴上加热到70℃以下溶解固体，待全溶后，冷却并再加水60mL，待结晶析出后，放置冰箱中过夜，次日过滤，结晶干燥后得25.5g成品。

贮存 干燥密闭保存。

参 考 文 献

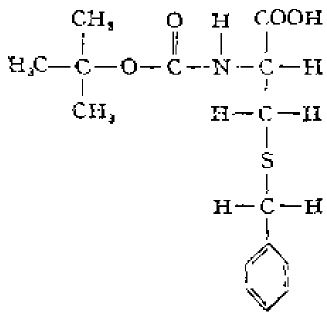
〔1〕 Schnabel, E.：*Ann, Chem*., 702 188 (1967).

N-叔丁氧羰基-*S*-苄基-L-半胱氨酸 Ⅱ-1(2)-0138

N$^{\alpha}$-*t*-Butyloxycarbonyl-*S*-benzyl-L-cysteine

别名 Boc-Cys-SBzl

结构式



分子式 $C_{15}H_{21}NO_4S$ **分子量** 311.40

理化性质 可从乙酸乙酯中得到结晶。不溶于水。

理化参数 熔点86～88℃。$[\alpha]_{546}^{20}-53°$（$C=1$，乙酸中）。

制备方法[1]

1. S-BZl CYS的制备 99g胱氨酸单盐酸盐（CyS·HCl·H_2O），溶于 300mL水中，过滤除去不溶物滤液置于1L三颈瓶中，加入110mL浓氨水，使溶液的 pH8 以下，于盐冰浴中冷却到5℃以下，在猛烈搅拌下滴加入 90mL 氯化苄，同时以 80 mL 浓氨水维持 pH9，2 小时加毕，撤除冰浴，室温下搅拌 2 小时，反应后，生成沉淀，过滤，用100mL水洗涤数次，固体置梨形瓶中加水研磨洗涤，再用乙醇洗涤，直到除尽了氯化苄，干燥后得 *S*-苄基半胱氨酸73g。熔点224～228℃（分解），产率64%。

2. NBOCCYS S-BZl的制备 12.66g Boc Cys OBZl悬浮于30mL二氧六环和水的（1:1）混合溶剂中，加入BOCN_3 8.9mL，于40℃以下的水浴中搅拌，并以 4mol/L氢氧化

钠溶液调pH9～10，反应48小时后，用乙酸乙酯抽提残剩的$BOCN_3$，加入氯化钠帮助分相，并以5%的氯化钠溶液洗涤有机相，然后，用1M氯化氢溶液和有机相振摇酸化，使其pH3～4，而后再用5%氯化钠溶液洗到pH中性，以无水硫酸钠干燥有机层，次日减压浓缩成粥状。可分成二种做法(1)除尽溶剂可得粉状产品。(2)以少量乙酸乙酯溶解后加入10mL二环己胺，制成Boc Cys-S-BZl·OCHA盐，浓缩成小体积后，再加入石油醚，在冰浴中研磨成固体，得14.2g成品，产率48%。

贮存 干燥密封保存。

备注 本品不易结晶，常为减压除去溶剂后的固体粉末，其溶点为63～65℃，$[\alpha]_D^{25}$41°(C=1，乙酸中)。

参 考 文 献

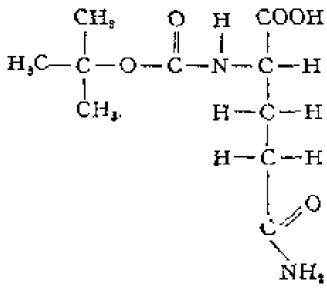
〔1〕 Anderson, G. W. and McGregor, A. C. : *J. Am. Chem. Soc.* 79, 6180 (1957).

N-叔丁氧羰基-L-谷氨酰胺 Ⅱ-1(2)-0139

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-L-glutamine

别名 Boc-Gln

结构式



分子式 $C_{10}H_{18}N_2O_5$ **分子量** 246.26

理化性质 不易结晶，常有泡沫状固体粉末。

理化参数 熔点不定，一般报导为116～117℃。$[\alpha]_D^{20}$－3.5°(C＝2，乙醇中)。

制备方法[1] 17g谷氨酰胺于100mL水中溶解，加入17mL三乙胺，搅拌，待固体基本溶解后，再加入100mL二氧六环和22g $BOCN_3$的溶液，同时加入21.5mL三乙胺，于45～50℃下搅拌，并用三乙胺维持其pH9.5，反应24小时后，加入100mL水，减压浓缩抽去二氧六环，用乙酸乙酯抽提3次，每次100mL，将乙酸乙酯层合并，用0.1mol/L氢氧化氨抽3次，每次500mL，合并二种水相，减压除去氢氧化氨，溶液的pH可达到7，冰浴下用2%乙酸的正丁醇溶液反抽提水相3次，合并有机层后，50℃以下减压浓缩除去溶剂，待成油状粘物后，真空干燥，以氢氧化钠干燥，干燥到粘物无汽泡逸出。干燥成固体后可得17.5g粗品，再用80mL乙酸乙酯全部溶解，加入石油醚分去上相，抽干下相，亦为泡沫状固体，产率为60%。

贮存 干燥密闭保存。

参 考 文 献

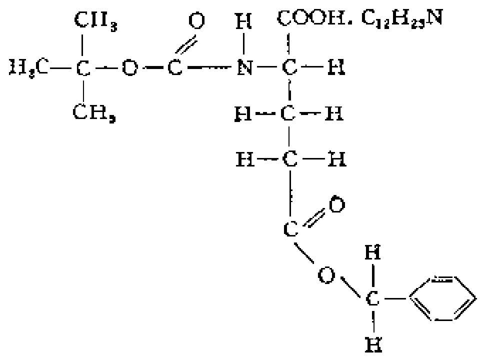
〔1〕 Schroder, F. and Klieger, E. : *Ann. Chem.*, 673, 196 (1964).

N^{α}-叔丁氧羰基-L-谷氨酸-γ-苄酯二环己胺盐　　Ⅱ-1(2)-0140

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-L-glutamic acid-γ-benzyl
ester dicyclohexylamine salt

别名　Boc-Glu-γ-OBzl-DCHA

结构式



分子式　$C_{17}H_{23}NO_6 \cdot C_{12}H_{23}N$　　**分子量**　518.70

理化性质　从乙酸乙酯中加入二环己胺得白色结晶。

理化参数　熔点　140～142℃，$[\alpha]_{546}^{20}$ + 15.0（C=1，甲醇中），从乙酸乙酯-己烷中结晶，结晶微溶于水，其熔点为138～138.5℃。$[\alpha]_{D}^{20}$ + 12°（C=1，甲醇中）。

制备方法[1]　200mL干乙醚于1L三颈瓶中，冰浴中冷却，滴加20mL浓硫酸，在冷却到5～7℃后，加入200mL重蒸苯甲醇减压抽去乙酸，在激烈搅拌下加入29.4g谷氨酸，到完全溶解为止，于20℃搅拌24小时，在冰浴冷却下，于10℃搅拌中逐渐加入400mL 95%乙醇，10℃下滴加100mL重蒸吡啶，搅拌到出现浑浊，置冰箱过夜。次日过滤，以少量吡啶洗涤沉淀，得粗品28g，用沸水重结晶粗品得谷氨酸γ-苄脂12g。熔点177～178℃。

5g谷氨酸γ-苄脂悬浮于30mL二氧六环和水（1:1）的溶液中，加入31mL $BOCN_3$和15mL二氧六环的混合液，搅拌下分两次加入6mL三乙胺和10mL二氧六环的混合液，其pH为8左右，搅拌20小时后，pH7.2，当pH不变后用乙醚抽提2次，除去$BOCN_3$，水层冰浴中冷却，用6g柠檬酸酸化到pH4.5左右，用乙酸乙酯抽提3次，合并后以饱和氯化钠溶液洗涤乙酸乙酯层3次，用无水硫酸钠干燥乙酸乙酯层，减压浓缩成原体积的三分之二，加入6mL二环己胺，立即有白色沉淀析出，置冰箱过夜，次日过滤得Boc-Glu-γ-OBzl·DCHA。

贮存　干燥密封保存。

参 考 文 献

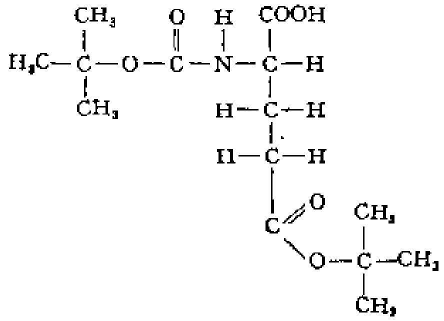
[1] Ariely, S. et al; *Biopolymers*., 7, 417 (1969).

N^{α}-叔丁氧羰基-L-谷氨酸-γ-叔丁酯　　Ⅱ-1(2)-0141

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-L-glutamic acid-γ-*t*-butylester

别名　Boc-Glu-(OBut)

结构式



分子式 $C_{14}H_{25}NO_6$ **分子量** 303.36

理化性质 白色结晶。溶于甲醇；不溶于水和石油醚。

理化参数 熔点110～112℃。[α]$_D^{25}$ 10.4(C=1,乙酸中)，[α]$_D^{25}$11.1(C=1，甲醇中)。

制备方法[1]

1．谷氨酸γ-叔丁酯(Ⅰ)的制备 2.4g(10mmol) 谷氨酸-α-苄酯于500ml圆底烧瓶中，溶于200mL二氧六环，慢慢滴加2.0mL浓硫酸，充分振荡，待全溶后，在盐冰溶浴中冷却，迅速加入经干冰冷却的20～30mL异丁烯，立即塞紧塞子，以线绳扎紧稍稍摇动使均匀，放入冰浴中，待冰自然融化，自然升至室温，放置二天后，重新用盐冰浴冷却，然后再开塞子，倾入到20mL 4mol/L氢氧化钠及28mL水的混合液中，溶液呈碱性，用乙醚抽提3次，合并醚层，用无水硫酸钠干燥醚层后，真空浓缩去乙醚至20mL左右，在盐冰浴中通入氯化氢，约5分钟，很快即有白色固体出现，置冰箱半小时后过滤得1.9g，熔点118～120℃。用乙酸乙酯重结晶得1.8g纯品，产率55%。熔点123～125℃。[α]$_D^{25}$+13.8(C=2，乙酯中)。

将上述中间体于50mL的丙酮中，加入20mL 1mol/L的氢氧化钠中，室温搅拌半小时，用1%柠檬酸中和至pH6，室温减压抽去丙酮，可得谷氨酸-γ-叔丁酯。或在苯甲醇中，以钯碳黑作催化剂，催化氢化6小时，放置过夜，次日除去催化剂，减压抽去苯甲醇得白色固体（Ⅰ）。熔点193～194℃。

2．叔丁氧碳基谷氨酸-γ-叔丁酯的制备：3.5g中间体(Ⅰ)溶于15mL二甲基甲酰胺（DMF），2mL水和2.5mL三乙胺中，加入5.6g（过量10%）的叔丁氧羰基叠氮，35℃摇动48小时，（必要时可补充0.25mL三乙胺，0.3mL水和2mL二甲基甲酰胺），待全部溶解后，抽去二甲基甲酰胺和三乙胺，加入约65mL 5%碳酸氢钠到反应体积为70mL，而后用1mol/L盐酸盐化到pH1，以乙酸乙酯抽提3次，合并有机层，用5%氯化钠洗到pH近中性，用无水硫酸钠干燥过夜，次日除去干燥剂，真空浓缩到小体积，冰箱放置，得白色针状结晶2.5g成品，产率49%。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

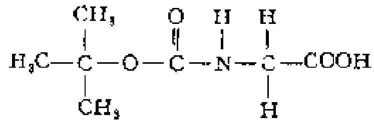
[1] Schnabel, E.: *Ann. Chem.*, 702, 188 (1967).

$N^α$-叔丁氧羰基甘氨酸 Ⅱ-1(2)-0142

$N^α$-*t*-Butyloxycarbonyl-glycine

别名 Boc-Gly

结构式



分子式 $C_7H_{13}NO_4$ **分子量** 175.19

理化性质 从乙酸乙酯-石油醚中结晶出来的白色沉淀，不溶于水和石油醚；溶于pH碱性的水和乙酸乙酯。

理化参数 熔点88～89℃。

制备方法 7.5g甘氨酸悬浮于20mL水和二氧六环（1∶1）的溶液中，搅拌加入14.3gBOCN$_3$（等当量反应）。并用4mol/L氢氧化钠溶液调节pH，使pH保持8～9，约用50mL。反应后液呈清，继续搅拌半小时，用乙醚抽提2次，弃去。水层在冰浴中用2mol/L盐酸溶液酸化到pH3～4，用乙酸乙酯抽提3次，合并乙酸乙酯层用5%氯化钠溶液洗涤到pH5，用无水硫酸钠干燥，减压浓缩至小体积，加入石油醚，有结晶析出，得15.9g成品，产率90%。

贮存 密封干燥保存。

参 考 文 献

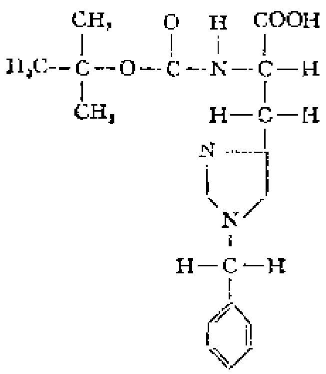
〔1〕 Anderson, G. W. and McGregor, A. C.: *J. Am. Chem. Soc.*, 79, 6180 (1957).

N^{α}-叔丁氧羰基-N^{im}-苄基-L-组氨酸 Ⅱ-1(2)-0143

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-N^{im}-benzyl-L-histidine

别名 *N*-Boc-His-N-Bzl

结构式



分子式 $C_{18}H_{23}O_4N_3$ **分子量** 345.40

理化性质 白色结晶。不溶于水、石油醚；溶于乙酸乙酯和甲醇。

理化参数 熔点180～182℃。$[\alpha]_D+24.8$($C=1$，甲醇中)。

制备方法[1] 60g组氨酸单盐酸盐，放入有600mL液氨的三颈瓶中，置干冰（固体二氧化碳）浴中，冷却到反应液－40℃时，加入30g金属钠(小心！)，5分钟加毕，在－40℃搅拌2小时，反应液呈深蓝色，再加入约15g组氨酸单盐酸盐，直到蓝色消退去。开始滴加44mL氯化苄，约1.5小时加毕，再搅拌30分钟，温度逐渐上升，让液氨挥发，最后减压抽去氨气，加入200～250mL乙醚抽提2次，弃去醚层，水层以5mol/L硫酸溶液调节pH8～8.5，有结晶析出，冰箱过夜，次日过滤得结晶，用水洗涤数次。沉淀真空干燥后，在400mL 70%乙醇中

重结晶得53.4g，熔点为247～249℃，产率70%。

6.1 g上述N^{im}-苄基组氨酸悬浮于20mL二氧六环和水（1:1）的溶液中，加入4.9mL三乙胺，此时pH8～9，搅拌下加入4gBOCN₃，室温下激烈搅拌48小时，用三乙胺经常调节pH9，反应完毕，过滤除去不溶物，滤液减压浓缩至干，再加入水乙醇于固体中，而后减压浓缩至干，反复几次，最后以吡啶乙酸乙酯混合溶剂溶解固体，加入石油醚重结晶；重结晶数次后得5.7g成品。

贮存 干燥密封保存。

参 考 文 献

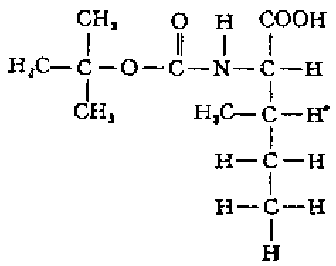
〔1〕 Handford, B. et al: *J. Org. Chem.*, 33, 4251 (1968).

N-叔丁氧羰基-L-异白氨酸 Ⅱ-1(2)-0144

N-*t*-Butyloxycarbonyl-L-isoleucine

别名 Boc-Ile；*N*-叔丁氧羰基-L-异亮氨酸

结构式



分子式 $C_{11}H_{21}NO_4$ **分子量** 231.29

理化性质 含有结晶水为针状结晶。不溶于石油醚；溶于乙酸乙酯。

理化参数 熔点48～50℃。$[\alpha]^{20}_{546}$+3.5(*C*=2，醋酸中)。

制备方法[1] 26g异亮氨酸悬浮于80mL水和二氧六环（1:1）的溶液中，搅拌下加入28.6g $BOCN_3$（等当量），及用4mol/L氢氧化钠调节pH9.8并维持此pH，约需消耗110mL氢氧化钠溶液，滴加两天，最后反应液呈黄色透明，此溶液用乙酸乙酯抽提3次，弃去有机层，水层酸化后，再以乙酸乙酯抽提3次，合并有机层，以饱和氯化钠溶液洗涤3次（使pH在5～6），以无水硫酸钠干燥，减压浓缩成油状物，过夜待结晶，次日生成辐射状针状结晶。在湿空气中待有机溶液挥发（或可适当加入微量的水）后，得20.6g成品。

贮存 密封保存。

备注 过分干燥成油状物。

参 考 文 献

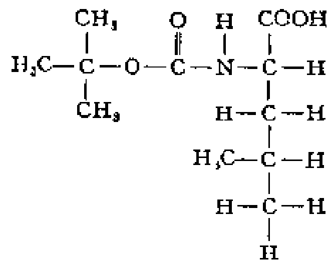
〔1〕 Anderson, G. W. et al: *J. Am. Chem. Soc.*, 86, 1839 (1964).

N-叔丁氧羰基-L-白氨酸 Ⅱ-1(2)-0145

N-*t*-Butyloxycarbonyl-L-leucine

别名 Boc-Leu；*N*-叔丁氧羰基-L-亮氨酸

结构式



分子式 $C_{11}H_{21}NO_4 \cdot H_2O$ **分子量** 249.31

理化性质 含有结晶水的晶体为针状，不含有水的为油状物。不溶于石油醚；溶于乙酸乙酯。

理化参数 熔点 85～87℃。$[\alpha]_{546}^{20}-29.0$

制备方法[1] 26g 亮氨酸悬浮于 80 mL水和二氧六环（1:1）的溶液中，搅拌下加入28.6g 叔丁氧碳基叠氮（等当量），及用 4mol/L 氢氧化钠溶液，消加两天，最后反应液呈黄色透明，此溶液用乙酸乙酯抽提 3 次，弃去有机层，水层在冰浴中冷却后用6mol/L盐酸酸化，再用乙酸乙酯抽提 3 次，合并有机层，以饱和氯化钠溶液洗涤多次，使水层pH在5～6，以无水硫酸钠干燥，减压浓缩成油状物，过夜待结晶，次日生成辐射状针状结晶。在湿空气中待有机溶液挥发，或可适当加入微量的水于结晶液之中，过滤后可得20.6g 产品。

贮存 密封保存。

备注 过分干燥成油状物，但仍可用。

参 考 文 献

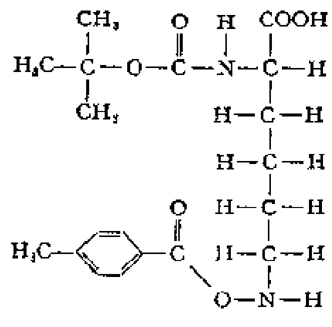
〔1〕 Anderson, G. W. and McGregor, A. C. ; *J. Am. Chem. Soc.*, 79,6180(1957).

N^{α}-叔丁氧羰基-N^{ϵ}-苄氧羰基-L-赖氨酸 Ⅱ-1(2)-0146

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-N^{ϵ}-*t*-benzyloxycarbonyl-L-lysine

别名 N^{α}-Boc-Lys-*N* -Z

结构式



分子式 $C_{19}H_{28}N_2O_6$ **分子量** 380.45

理化性质 常为油状物。在二环已胺的作用下生成二环已胺盐，为白色结晶。

理化参数 二环已胺盐结晶，熔点为 114～116℃，$[\alpha]_{546}^{20}-7.0$(C=1，乙酸中)。油状物 $[\alpha]_D^{20}-9°$(C=1，乙酸中)。

制备方法 20g 赖氨酸单盐酸盐于 22mL 5mol/L 氢氧化钠溶液中溶解，搅拌下加入55

mL0.5mol/L硫酸铜新鲜配制的溶液，同时加入55mL 2mol/L氢氧化钠溶液，置冰浴中冷却，滴加入20mL 6.1mol/L苄氧羰酰氯（过量约10%），并用2mol/L氢氧化钠溶液调节pH，使其维持pH8～9，整个反应过程约消耗2mol/L氢氧化钠约70mL，待加毕并且pH不再变化后，除去冰浴，升至室温再搅拌2小时，过滤后沉淀用水洗数次，再用乙醚洗数次，得蓝色固体，将此固体与20g乙二胺四乙醚及250mL水共沸15分钟，过滤除去滤液，沉淀重复操作直到固体成白色。再用100mL1mol/L盐酰溶液研磨，滤去不溶物，清液以吡啶调节pH6，有白色沉淀产生，再在冰浴中放置数小时，使结晶完全，过滤得20.6g结晶。

5.6g上述N^{ϵ}-苄氧羰基-L-赖氨酰于10mL 2mol/L氢氧化钠溶液中溶解，再加入40mL二甲基甲酰胺（DMF）和28mL三乙胺，再加入5.2g $BOCN_3$（过量6.5%），在25～28℃振荡反应二天，用酸调节pH至6～7，减压浓缩除去溶剂，残剩物再加入100mL蒸馏水，在冰浴下调节pH至2，约用1mol/L盐酰溶液50mL，以乙酸乙酯抽提3次，合并乙酸乙酯层，再用5%碳酸氢氨溶液反抽提2次，合并水相，再在冰浴下冷却，用1mol/L盐酸溶液调节pH至2，此时有棕色油状物析出，以乙酸乙酯抽提3次，合并有机层，用5%氯化钠溶液洗涤有机层3次，再用无水硫酸钠干燥，浓缩得5g油状物。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

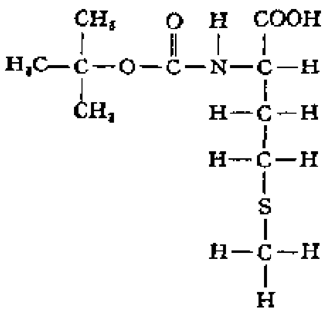
〔1〕 Benzyloxycarbonyl Anderson, G. W. and McGregor, A. C. ; *J. Am. Chem. Soc.*, 79, 6180(1957).

N^{α}-叔丁氧羰基-L-甲硫氨酸　　Ⅱ-1(2)-0147

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-L-methionine

别名 Boc-Met

结构式



分子式 $C_{10}H_{19}NO_4S$　　**分子量** 249.34

理化性质 油状物，放置冰箱数周后成结晶，置空气中过滤结晶仍成油状物。其二环己胺盐为结晶，分子量为430.66，分子式为$C_{10}H_{19}NO_4S\cdot C_{12}H_{23}N$。

理化参数 二环己胺盐的熔点139～141℃。$[\alpha]^{20}_{546}+21°(C=2$，乙醇中)。

制备方法[1] 5g甲硫氨酰（33mmol）于15mL 2mol/L氢氧化钠溶液中溶解，再加入10mL蒸馏水，此时pH为9.7，而后加入25mL二氧六环，在45℃水浴中，搅拌下加入5mL叔丁氧羰基叠氮（约36mmol），反应过程中用2mol/L氢氧化钠溶液调节pH，使其维持在9～9.3，6小时pH不再变，再搅拌4小时，室温过夜，次日补加1mL 2mol/L氢氧化钠溶液，再反应2小时。用乙醚抽提4次，弃去乙酸层，水层在冰浴中冷却到10℃以下，置低室温处

（10℃）上覆盖一层乙醚，用6mol/L盐酸溶液酸化（约12mL盐酸溶液），迅速用乙醚抽提4次，合并乙醚层，用水洗乙醚层4次，以上操作要极迅速，可使叔丁氧羰基甲硫氨酸氧化最少，再用无水硫酸钠干燥乙醚层，最后减压浓缩除去乙酸得7.5g油状物。

备注 商品常制成二环己胺盐[2]，为白色固体。熔点 141℃。$[\alpha]_D -18.2°$（$C=0.62$，甲醇中）。

参考文献

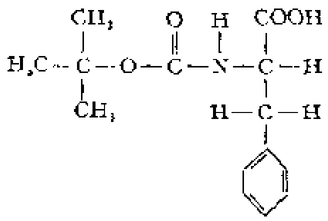
〔1〕 Anderson, G. W. and McGregor, A. C. : *J. Am. Chem. Soc.* 79 6180(1957).
〔2〕 Inouye, K. et al: *Bull. Chem. Jap.*, 43, 3873(1970).

N^{α}-叔丁氧羰基苯丙氨酸 Ⅱ-1(2)-0148

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-L-phenylalanine

别名 Boc-Phe

结构式



分子式 $C_{14}H_{19}NO_4$ **分子量** 265.31

理化性质 白色结晶。不溶于石油醚；溶于乙酸乙酯、二甲基甲酰胺。

理化参数 熔点84～86℃。$[\alpha]^{20}_{546}+30°(C=1)$

制备方法[1] 5g苯丙氨酸悬浮于水和二氧六环（1∶1）的溶液中，滴加入4.5mL叔丁氧羰基叠氮，以4mol/L氢氧化钠溶液维持反应pH在9～10，2小时后加完，搅拌过夜，此时pH应不变，再用乙醚抽提2次，弃去醚层，水层在冰浴中冷却，用6mol/L盐酸溶液约10mL，调节pH到中性，可得针状结晶。过滤得沉淀，用水洗涤，而后加少量水加热溶解，冷却后以6mol/L盐酸酸化到pH3，用乙酸乙酯抽提3次，合并酯层，水洗酯层10次，此时pH为4～5，用无水硫酸钠干燥，浓缩成小体积，加石油醚，加晶种可得结晶2.4g。

贮存 干燥密闭贮存。

参考文献

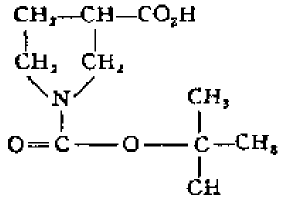
〔1〕 Schnabel, E. : *Ann. Chem.*, 702, 188(1967).

N^{α}-叔丁氧羰基-L-脯氨酸 Ⅱ-1(2)-0149

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-L-proline

别名 Boc-Pro

结构式



分子式 $C_{10}H_{17}NO_4$ **分子量** 215.25

理化性质 白色结晶。不溶于水；溶于乙酸乙酯。

理化参数 熔点134～136℃。$[\alpha]_D^{20}-60$ (C=1，乙酸中)。

制备方法[1] 5.75g脯氨酸于20mL水和二氧六环（1:1）的溶液中，加入过量10%的叔丁氧羰基叠氮，并以4mol/L氢氧化钠调节pH，维持在pH10。反应完毕后，以乙酸乙酯抽去残剩的叔丁氧羰基叠氮，以氯化氢于冰浴中酸化，以乙醚抽提3次，合并醚层用饱和氯化钠溶液洗涤，无水硫酸钠干燥，除去硫酸钠，适当除去溶剂后加入石油醚，得结晶8g。

贮存 干燥密闭保存。

参 考 文 献

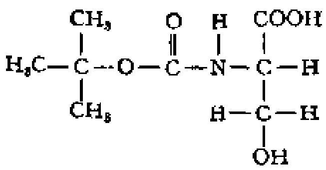
〔1〕 Sandrin, E. and Boissonnas, R. A.: *Helv. Chim. Acta.*, 46, 1637(1963).

N^{α}-叔丁氧羰基-L-丝氨酸 Ⅱ-1(2)-0150

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-L-Serine

别名 Boc-Ser

结构式



分子式 $C_8H_{15}NO_5$ **分子量** 205.21

理化性质 白色固体。很易成油状物。

理化参数 熔点45～47℃。$[\alpha]_D^{20}-4$($C=2$，乙酸中)。

制备方法[1] 39g *O*-苄基丝氨酸悬浮于160mL的水和二氧六环（1:1）的溶液中，在30℃搅拌下，加入220mmol的叔丁氧羰基叠氮（过量10%），以4mol/L的氢氧化钠溶液维持pH至10，反应24小时，共消耗约100mL的氢氧化钠，反应完毕后加水100mL，用乙酸乙酯抽提3次，水层在冰浴中冷却后，用6mol/L盐酸酸化到pH3～4，再用乙酸乙酯抽提3次，合并抽提液，用5%氯化钠洗到乙酸乙酯近中性。以无水硫酸钠干燥，次日过滤，滤液浓缩成小体积后得结晶，次日过滤得中间体，此中间体通过催化氢化即得产品。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

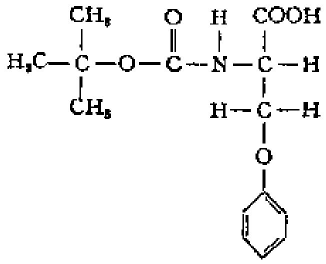
〔1〕 Otsuka, H. et al: *Bull. Chem. Soc. Jap.*, 39, 1171(1966).

N^{α}-叔丁氧羰基-O-苄基-L-丝氨酸　　Ⅱ-1(2)-0151

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-*O*-benzyl-L-serine

别名　Boc-Ser-O-Bzl

结构式



分子式　$C_{15}H_{21}NO_5$　　**分子量**　295.34

理化性质　白色结晶。不溶于水、石油醚；溶于乙酸乙酯。

理化参数　熔点56～58℃。$[\alpha]^{20}_{546}+24°$($C=2$，80%乙醇水溶液中)。

制备方法[1]　39g *O*-苄基丝氨酸悬浮于160mL 水和二氧六环（1∶1）的溶液中，在30℃下搅拌加叔丁氧羰基叠氮（过量10%），以4mol/L氢氧化钠保持pH9～10，反应24小时，约消耗4mol/L氢氧化钠100mL，反应完毕后加水100mL，用乙酸乙酯抽提3次，弃去，水层以4mol/L盐酸在冰浴中调节pH到3；用乙酸乙酯抽提3次，合并有机层，用5%氯化钠水溶液洗涤，使乙酸乙酯层pH为6以上，以无水硫酸钠干燥，浓缩后可得结晶。

贮存　干燥密封贮存。

参考文献

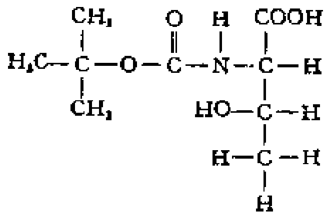
〔1〕 Wünsch, E. and Zwick, A.: *Chem. Ber.*, 97, 2497(1964).

N^{α}-叔丁氧羰基-L-苏氨酸　　Ⅱ-1(2)-0152

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-L-threonine

别名　Boc-Thr

结构式



分子式　$C_9H_{17}NO_5$　　**分子量**　219.24

理化性质　白色结晶。

理化参数　熔点74～77℃，$[\alpha]^{20}_{546}-10$($C=1$，乙酸中)。

制备方法[1]　将N^{α}-叔丁氧羰基-*O*-苄基-苏氨酸在甲苯醇中催化氢化，除去溶剂后即可得Boc-Thr，可按Boc-Ser方法操作。

贮存　干燥密封保存。

参 考 文 献

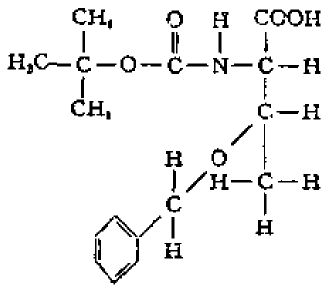
〔1〕 Schnabel, E.: *Ann. Chem.*, 702, 188(1967).

N^{α}-叔丁氧羰基-O-苄基-L-苏氨酸　　Ⅱ-1(2)-0153

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-*O*-benzyl-L-threonine

别名　Boc-Thr-O-Bzl

结构式



分子式　$C_{16}H_{23}NO_5$　　**分子量**　309.37

理化性质　白色结晶。不溶于石油醚、水。溶于乙酸乙酯。

理化参数　熔点114～116℃。$[\alpha]^{20}_{546}+19(C=1.1$，甲醇中)。

制备方法[1]　6g苄基苏氨酸$\left(\text{Thr-O-Bzl}\cdot\frac{1}{2}\text{草酸}17.5\text{mmol}\right)$悬浮于500mL水中，加入5g碳酸钠，以分液漏斗摇匀，成浑浊溶液，以硅藻土作助滤剂过滤除去不溶物，滤液用乙酸乙酯抽提5次，合并酯层，用5%氯化钠溶液洗到酯层中性，加入无水硫酸钠干燥，除去硫酸钠，溶液减压浓缩除去乙酸乙酯，得微黄色油状物4.35g。加入20mL二氧六环和4mol/L氢氧化钠10mL，于40℃皂化3小时，pH保持在14以上，在40℃恒温下，加入7mL叔丁氧羰基叠氮，pH很快下降到8，以4mol/L氢氧化钠溶液调pH9～10，反应过夜时，加入20mL 4mol/L氢氧化钠pH在14以上，次日pH不变，再加入2mL叔丁氧羰基叠氮继续反应，pH稳定后过夜，次日pH为8，冷却反应液变为混浊，此时再补加4mo/L氢氧化钠维持pH10，反应液呈清，反应48小时，共用叔丁氧羰基叠氮9mL和4mol/L氢氧化钠34mL，次日在50℃减压浓缩，除去二氧六环和水，得黄色粘稠液，加50mL乙酸乙酯，以饱和氯化钠洗涤到pH中性，无水硫酸钠干燥醚层，除去硫酸钠，浓缩得微黄色糖浆状物，加入5mL乙醚振摇后，加入石油醚研磨，滤去石油醚得3.9g粗品。以5mL乙酸乙酯微热溶解成浅黄色溶液，加入100mL石油醚(30～60℃)振摇后，有结晶析出，再加入100mL石油醚振摇，冰箱过夜，得3.7g。

贮存　干燥密闭贮存。

参 考 文 献

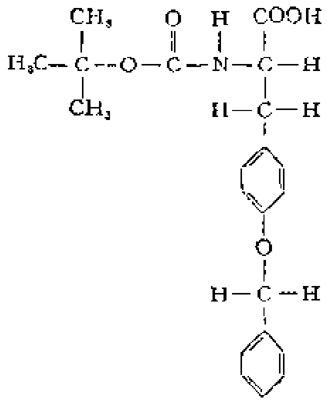
〔1〕 Mizoguchi, T. et al.: *J. Org. Chem.*, 33, 903(1968).

N^{α}-叔丁氧羰基-O-苄基-L-酪氨酸 Ⅳ-1(2)-0154

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-*O*-benzyl-L-tyrosine

别名 Boc-Tyr-OBzl

结构式



分子式 $C_{21}H_{25}NO_5$ **分子量** 371.44

理化性质 白色结晶。不溶于水、石油醚；溶于酸、乙酯。

理化参数 熔点110～112℃。$[\alpha]^{20}_{546}+33.5$($C=2$，乙醇中)。

制备方法[1] 20g酪氨酸（110.5mmol）于三颈瓶中，加入110mL 4mol/L氢氧化钠溶液溶解，在搅拌中加入用 20mL水溶解的13.8g硫酸铜·$5H_2O$(约55mmol）的溶液，再加入300mL甲醇，待少量颗粒析出后，加入20mL和14mL各一次的溴化苄，剧烈搅拌下很快有蓝色沉淀产生，再搅拌2小时，过滤除去溶液，沉淀用甲醇和水(1∶3.5)500mL洗涤，取出沉淀，用1mol/L盐酸溶液研磨洗涤成为白色沉淀。过滤除去滤液，用水洗涤3次，以1mol/L氢氧化铵溶液洗涤1次，水洗涤3次，丙酮与乙醚洗涤3次，这时滤液应无色，若还有色，则再洗数次。干燥后用80%醋酸热沸溶解，冷却后结晶析出，若色深，可再结晶1次，得17.5g结晶。

8g上述产品悬浮于30mL水和20mL二氧六环中，在30～35℃搅拌下加入5mL,叔丁氧羰基叠氮，以4mol/L氢氧化钠溶液调节并维持反应液pH10，约用45mL氢氧化钠溶液，反应40小时后冷却无固体析出，表示反应完全，否则继续反应，用乙醚抽提2次，除去残剩的叔丁氧羰基叠氮，水相在冰浴中冷却，以30mL 2mol/L盐酸溶液酸化到pH3，用乙酸乙酯抽提3次，合并酯层用无水硫酸钠干燥，除去硫酸钠，浓缩除去乙酸乙酯，得油状物，再加入少量干燥的乙酸乙酯溶解，加入石油醚得结晶9g成品。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

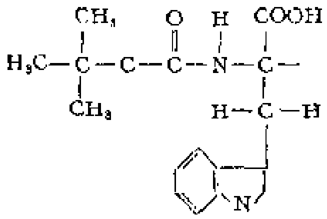
〔1〕 Schnabel, E.：*Ann. Chem.*, 702, 188～9(1967).

N^{α}-叔丁氧羰基-L-色氨酸 Ⅳ-1(2)-0155

N^{α} *t*-Butyloxycarbonyl-L-tryptophen

别名 Boc-Trp

结构式



分子式 $C_{16}H_{20}N_2O_4$ **分子量** 304.35

理化性质 白色结晶羽毛状。不溶于石油醚；溶于乙醚、乙酸乙酯。

理化参数 熔点135～137℃。$[\alpha]_{546}^{20}-22.5$($C=1$，二甲基甲酰中)。

制备方法[1] 10.2g 色氨酸（50mmol/L）悬浮于20mL水和二氧六环（1:1）的溶液中，加入叔丁氧羰基叠氮 55mmol（过量10%），35℃反应，并以4mol/L 氢氧化钠维持pH9～10过夜，溶液变清，消耗4mol/L氢氧化钠溶液27.5mL左右。以乙醚抽提2次，弃去。水相呈黄色，置冰浴中以6mol/L氯化氢溶液酸化到pH3～4，消耗盐酸约18mL。用乙酸乙酯抽提3次，合并后以5%氯化钠洗涤3次（使水层pH为6），以无水硫酸钠干燥，减压浓缩至干，得油状物。以少量乙酸乙酯溶解，滴加石油醚到浑浊，有少量结晶析出，此时再渐渐加入石油醚到结晶较多后停止，置冰箱过夜，得10.5g粗品。重结晶时用乙醚溶解，加入石油醚得羽毛状结晶4.7g。

贮存 干燥避光贮存。

参 考 文 献

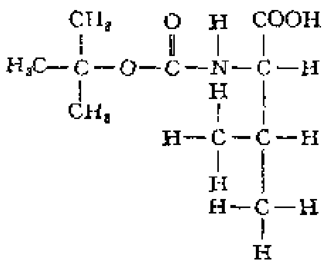
〔1〕 Pettit, G. R.: *Can. J. Chem.*, 45, 1561(1967).

N$^{\alpha}$-叔丁氧羰基-L-缬氨酸 Ⅱ-1(2)-0156

N$^{\alpha}$-*t*-Butyloxycarbonyl-L-Valine

别名 Boc-Val

结构式



分子式 $C_{10}H_{19}NO_4$ **分子量** 217.27

理化性质 白色结晶。不溶于水、石油醚；溶于乙酸乙酯。

理化参数 熔点80℃。$[\alpha]_{D}^{20}-6.9$($C=1.2$，醋酸中)。

制备方法[1] 10g缬氨酸(85mmol）溶于20mL的水和二氧六环（1:1）的溶液中，加入叔丁氧羰基叠氮100mmol（过量15%），以4mol/L氢氧化钠调到pH9.5，并维持此反应pH，和保持反应温度30℃，44小时之后，用乙醚抽提反应液3次，弃去醚层。水相在冰浴中冷却，以6mol/L盐酸溶液调节到pH5，用乙酸乙酯抽提3次，合并乙酸乙酯层，以5%氯化钠

溶液洗涤酯层3次以上，直到洗涤后的水层为pH6.5为止。用无水硫酸钠干燥酯层。减压浓缩至干，加入少量无水乙酸乙酯溶解，而后滴加石油醚至溶液混浊。冰箱中放置过夜，次日过滤，得结晶12g。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

〔1〕 Anderson, G. W. and McGreger, A. C.: *J. Am. Chem. Soc.*, 79,6180(1957).

N-苯甲酰-DL-丙氨酸 Ⅱ-1(2)-0157

N-Benzoyl-DL-alanine

别名 DL-苯甲酰初油氨基酸；DL-苯甲酰胺基丙酸；DL-2-Benzamidopropionic acid

结构式 $CH_3CHNH(COC_6H_5)COOH$

分子式 $C_{10}H_{11}NO_3$ **分子量** 193.20

理化性质 白色结晶。溶于乙醇；微溶于水；不溶于氯仿。

理化参数 熔点165～166℃。

制备方法[1] 0.1mol的DL-丙氨酸溶于60mL 2mol/L的氢氧化钠中，冰浴冷却后加入15g苯甲酰氯和60mL 2mol/L氢氧化钠，边加边搅拌，使反应液保持碱性，30分钟加毕，继续搅拌下升到室温，用浓盐酸调节到反应液呈现酸性，冰箱过夜，次日过滤，沉淀用冰水洗涤，空气中干燥过夜，次日将沉淀悬浮于30～40mL氯仿中，而后打成糊状，充分搅拌，过滤除去氯仿，此时残剩的苯甲酸被氯仿除去，干燥后即得产品。可用乙醇-水重结晶，产率约80%。

贮存 干燥密闭贮存。

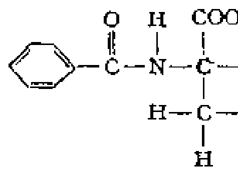
参 考 文 献

〔1〕 Baum, J. Z.: *Z. Physiol. Chem.*, 9,465(1885).

N-苯甲酰-L-丙氨酸 Ⅱ-1(2)-0158

N-Benzoyl-L-alanine

结构式



分子式 $C_{10}H_{11}NO_3$ **分子量** 193.20

理化性质 白色结晶。溶于乙醇；微溶于水，不溶于氯仿。

理化参数 熔点150～151℃。$[\alpha]_D^{20}+37.1°$（$C=9.3$，于1mol/L氢氧化钾溶液中）。

制备方法[1] 8.9mol的L-丙氨酸溶于60mL 2mol/L氢氧化钠溶液中，冰浴冷却后，加入15g苯甲酰氯和60mL 2mol/L氢氧化钠，边加边搅拌，保持反应液为碱性，30分钟加毕后，在继续搅拌下，升至室温，用浓盐酸调节酸性，冰箱过夜（至少放置2小时）过滤，沉

淀用冰水洗涤，在空气中干燥过夜，次日用氯仿30～40mL将沉淀悬浮于中，过滤除去氯仿（此时残剩的苯甲酸被氯仿除去），可用乙醇-水重结晶，产率约80%。

贮存 干燥密闭贮存。

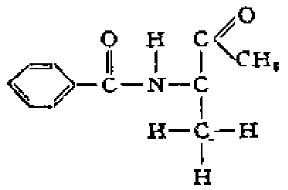
参考文献

〔1〕 Fischer, E.; *Ber.*, 22,2451(1889).

N^{α}-苯甲酰-L-丙氨酸甲酯 Ⅱ-1(2)-0159

N^{α}-Benzoyl-L-alanine methyl ester

结构式



分子式 $C_{11}H_{13}NO_3$ **分子量** 207.23

理化性质 白色结晶。溶于甲醇；不溶于水及乙醚。

理化参数 熔点60～62℃。

制备方法 苯甲酰-L-丙氨醚于无水甲醇中，0℃通入干燥的氯化氢至饱和，室温过夜，次日减压抽去含氯化氢的甲醇，再加入100mL无水甲醇，再将甲醇减压浓缩抽干，反复多次，直至除去氯化氢，以少量无水甲醇溶解固体，加入乙醚可得结晶。

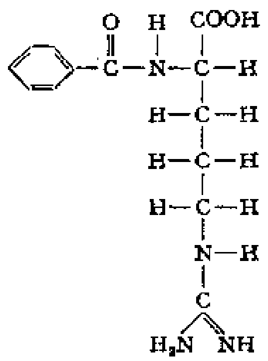
贮存 干燥密封4℃保存。

用途 本品常用于胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶存在下测定弹性朊酶的底物，测定方法见Enzymologia, 40,345,(1971)。

N^{α}-苯甲酰-L-精氨酸 Ⅱ-1(2)-0160

N^{α}-Benzoyl-L-arginine

结构式



分子式 $C_{13}H_{18}N_4O_3$ **分子量** 278.31

理化性质 白色结晶。少悬溶于水。

理化参数 熔点 298℃(分解)。$[\alpha]^{20}_{546}$ −11(C=1，于1mol/L盐酸溶液中)。

制备方法[1] 17.4g L-精氨酸溶于60mL2mol/L的氢氧化钠溶液中，冰浴冷却至10℃，同时滴加入15g苯甲酰氯(过量10%)和60mL的2mol/L氢氧化钠溶液，使反应液保持碱性，边加

边搅拌，反应温度也保持不变，两种溶液同时加毕后，继续搅拌15分钟后，撤去冰浴，继续搅拌升至室温，用浓盐酸调节反应液至酸性，在冰浴4℃中保温2小时。有沉淀产生，过滤后沉淀用冰水洗涤数次，真空干燥即可得产品。

贮存 干燥密闭贮存。

参考文献

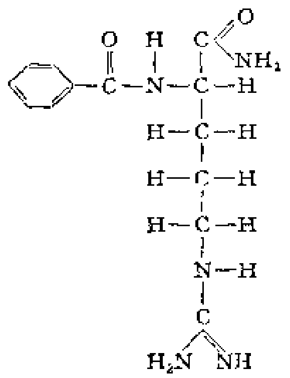
〔1〕 Felix, K.; Müller, H. and Din, K.; *Z. Physiol. Chem.*, 178, 192(1928).

N^{α}-苯甲酰-L-精氨酰胺盐酸盐 Ⅱ-1(2)-0161

N^{α}-Benzoyl-L-argininamide hydrochloride

别名 BAA

结构式



分子式 $C_{13}H_{19}N_5O_2 \cdot HCl \cdot H_2O$ **分子量** 331.80

理化性质 白色结晶。溶于水。

理化参数 熔点127～131℃。$[\alpha]^{20}_{546}$+10°(C=1，于1mol/L盐酸溶液中)。

制备方法 L-精氨酰胺作起始原料，操作方法与L-精氨酸（Ⅱ-1(1)-0018）类同。

贮存 干燥密闭4℃保存。

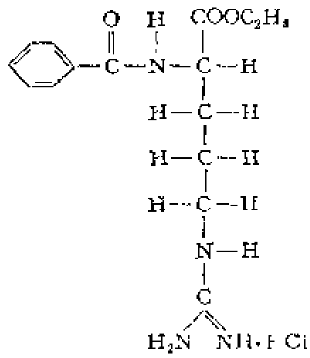
用途 常用于无花果蛋白酶，胰蛋白酶，木瓜蛋白酶，组织蛋白酶B的酶底物。也可用于人血浆中测定精氨酸酶的底物。

N^{α}-苯甲酰-L-精氨酸乙酯盐酸盐 Ⅱ-1(2)-0162

N^{α}-Benzoyl-L-arginine ethyl ester hydrochloride

别名 BAEE

结构式



分子式 $C_{14}H_{22}N_4O_3 \cdot HCl$ **分子量** 342.83

理化性质 白色结晶。溶于水。

理化参数 熔点128～130℃。$[\alpha]_{546}^{20}$ −20°(C=2，水中)。

制备方法 参阅N^{α}-苯甲酰-L-丙氨酸甲酯（Ⅱ-1(2)-0159）的制备方法。

贮存 干燥密闭4℃保存。

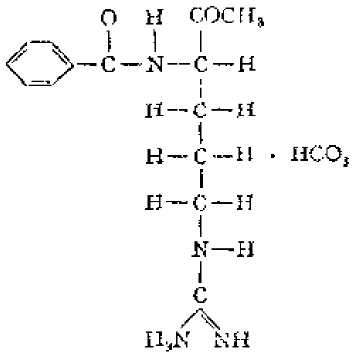
用途 常用于胰蛋白酶测定底物。也是人血浆中精氨酸酶测定用的合成底物。

N^{α}-苯甲酰-L-精氨酸甲酯碳氢酸盐 Ⅱ-1(2)-0163

N^{α}-Benzoyl-L-Arginine Methyl ester hydrogen carbonate

别名 BAME

结构式



分子式 $C_{14}H_{20}N_4O_3 \cdot HCO_3$ **分子量** 354.37(盐酸盐·28.80)

理化性质 白色结晶。溶于水。

理化参数 苯甲酰精氨酸甲酯的熔点60～62℃。

制备方法 参阅苯甲酰丙氨酸甲酯（Ⅱ-1(2)-0159)。

贮存 干燥密闭4℃保存。

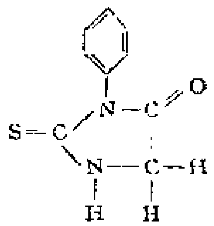
用途 常用于波罗蛋白酶和胰旦白酶的测定底物。碳酸氢盐比盐酸盐的吸湿性更小。

乙内酰苯硫脲甘氨酸 Ⅱ-1(2)-0164

Phenylthiohydantoinglycine

别名 PTH-gly

结构式



分子式 $C_9H_8N_2OS$ **分子量** 109.21

理化性质[1] 从乙酸-水溶液中得结晶。溶于乙醇、乙酸；不溶于苯。

理化参数 熔点245～248℃。光谱吸收高峰为267.5nm，ε1.45×10⁴。

制备方法 参阅PTH-Ala(Ⅱ-1(2)-0232)

贮存 0℃

参 考 文 献

〔1〕 潘家秀等编：蛋白质化学研究技术，科学出版社，115(1962)。

N^{α}-苯甲酰-DL-精氨酸对硝基苯胺盐酸盐 Ⅱ-1(2)-0165

N^{α}-Benzoyl-DL-arginine-*p*-Nitro-anilide hydrochloride

别名 BAPNA

结构式 NHC〔:NH〕NH$(CH_2)_3$CH〔$NHCOC_6H_5$〕$CONHC_6H_4NO_2$·HCl

分子式 $C_{19}H_{22}N_6O_4$·HCl **分子量** 434.89

理化性质 白色结晶。溶于醇。

理化参数 熔点275～276℃(分解)，

制备方法 苯甲酰精氨酸与对硝基苯胺作用。

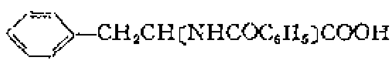
贮存 干燥密封避光保存。

用途 常用于测定胰旦白酶和木瓜旦白酶用的发色底物。

N^{α}-苯甲酰-DL-苯丙氨酸 Ⅱ-1(2)-0166

N^{α}-Benzoyl-DL-phenylalanine

结构式



分子式 $C_{16}H_{15}NO_3$ **分子量** 269.30

理化性质 白色结晶。溶于乙醇；碱性水溶液，少量溶于水。

理化参数 熔点187～188℃。

制备方法[1] 0.1mol的DL-苯丙氨酸于2mol/L氢氧化钠中，加入0.11mol苯甲酰氯作用按丙氨酸的苯甲酰化即可制得。

贮存 干燥密闭贮存。

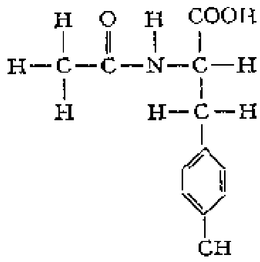
参 考 文 献

〔1〕 Fischer, E. and Mouneyrat, A.: *Ber*, 33, 2383(1900).

N^{α}-苯甲酰-L-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0167

N^{α}-Benzoyl-L-tyrosine

结构式



分子式 $C_{16}H_{15}NO_4$ **分子量** 285.33

理化性质 白色结晶。溶于甲醇；碱性的水溶液，微溶于水。

理化参数 熔点165～166℃。$[\alpha]_D$ +19.3 (C=3．1mol/L的氢氧化钾溶液中)。

制备方法[1] 用0.1mol的L-酪氨酸在2mol/L浓度的氢氧化钾溶液中溶解，而后加入0.11 mol的苯甲酰氯，保持pH10左右反应，即可得产品。

贮存 干燥密闭贮存。

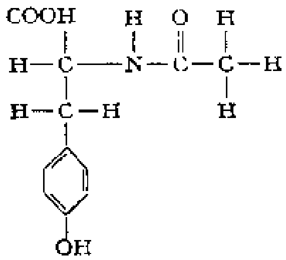
参 考 文 献

〔1〕 Fischer, E.: *Ber.*, 32, 3638(1900).

N^α-苯甲酰-D-酪氨酸 Ⅱ-1(2)-0168

N^α-Benzoyl-D-tyrosine

结构式



分子式 $C_{16}H_{15}NO_4$ **分子量** 285.33

理化性质 白色结晶。溶于甲醇；碱性的水溶液，微溶于水。

理化参数 熔点 165.5℃。$[\alpha]^{22}_{D}$ -19.6(C=7.71mol/L氢氧化钾溶液中)。

制备方法[1] 以D-酪氨酸为原料按L-酪氨酸(Ⅱ-1(2)-0167)法合成。

贮存 干燥密闭贮存。

备注 DL型的熔点195～197℃。

参 考 文 献

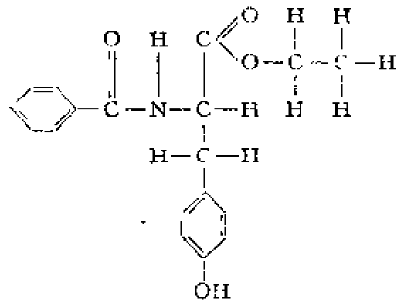
〔1〕 Fischer, E.: *Ber.*, 32, 3638(1900).

N^α-苯甲酸-L-酪氨酸乙酯 Ⅱ-1(2)-0169

N^α-Benzoyl-L-tyrosine ethyl ester

别名 BTEE

结构式



分子式 $C_{18}H_{19}NO_4$ **分子量** 313.36

理化性质 白色结晶。溶于乙醇；不溶于水。

理化参数 熔点 118～120℃。$[\alpha]_{546}^{20}$ -32°(C=1，乙醇中)。

制备方法 以苯甲酰-L-酪氨酸为原料，在无水乙醇中通入干燥氯化氢即可制得。（参阅苯甲酰-L-丙氨酸甲酯（Ⅱ-1(2)-0159）的制备方法）。

贮存 干燥密闭贮存。

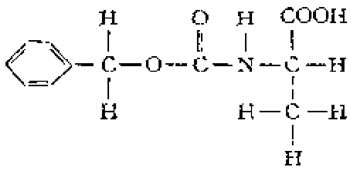
用途 常用于胰凝乳蛋白酶，胰蛋白酶和蛋白水解酶测定活性时的底物。

N^{α}-苄氧羰基-L-丙氨酸 Ⅱ-1(2)-0170

N^{α}-Benzyloxycarbonyl-L-alanine

别名 Z-Ala；Cbz-Ala；N^{α}-carbobenzoxyalanine

结构式



分子式 $C_{11}H_{13}NO_4$ **分子量** 223.23

理化性质 可从乙酸乙酯的溶液中，加入石油醚而得到结晶；晶体不溶于水。

理化参数 熔点 84～85℃。$[\alpha]_{D}^{20}$ -15.0°±0.5°(C=5，乙酸中)。

制备方法[1] 1L的三颈瓶中，加入64.6g丙氨酸（约500mmol）和30mL水，将三颈瓶放入盐冰浴中，冷却到 0℃，在搅拌下加入4mol/L 氢氧化钠溶液 130mL（约520mmol），待丙氨酸全部溶解后，其pH为10，缓缓滴加入150mL的6mol/L苄氧羰酰氯（约 0.9mol 过量80%），维持反应温度在 0～5℃ 之间，并随时用4mol/L氢氧化钠调节pH，使其保持在 8 以上，加毕后其pH为 8，除去冰浴，在室温中缓缓搅拌过夜，约耗4mol/L氢氧化钠169mL（约0.68mol）。

每次以125mL乙醚抽提 4 次，在冰浴中以6mol/L盐酸中和，使pH在2～3之间，再以每次180mL乙酸乙酯抽提 4 次，合并有机相，以饱和氯化钠溶液洗 3 次，使水相的pH在 4～5 之间。有机相用无水硫酸钠干燥；过滤除去硫酸钠，有机相浓缩到150mL 左右，加入石油醚到溶液呈现浑浊，冰箱过夜，次日过滤得结晶约60g。母液再浓缩后，重新加入石油醚同法结晶得40g，合并后，重结晶得85g产品，产率为70%。

贮存 密闭贮存。

参 考 文 献

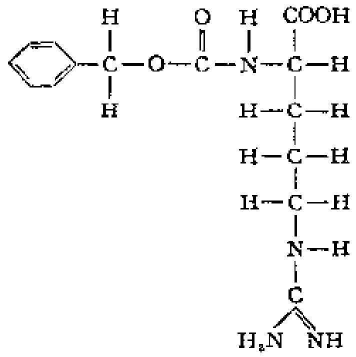
〔1〕 Marchio, F. et al: *Gazz. Chim.* (*Ital*), 93,823(1963).

N^{α}-苄氧羰基精氨酸 Ⅱ-1(2)-0171

N^{α}-benzyloxycarbonylarginine

别名 Z-Arg; Cbz-Arg; N^{α}-carbobenzoxyarginine

结构式



分子式 $C_{14}H_{20}N_4O_4$ **分子量** 308.34

理化性质 白色结晶。不溶于水、石油醚；溶于丙酮、乙酸乙酯。

理化参数 熔点166～168℃。$[\alpha]_{546}^{20}-11.0\pm1°$($C=5$,1mol/L 中)。

制备方法[1] 35g精氨酸于500mL三颈瓶中，加入250mL 1mol/L碳酸氢钠搅拌到全部溶解，其pH为10，溶液为米黄色澄清液，在－8℃盐冰浴中冷却，搅拌下滴加40mL苄氧羰基氯（6mol/L），用1mol/L氢氧化钠滴加维持pH9～9.5，反应温度保持在7℃以下，逐渐有白色沉淀产生，滴加完毕后，除去盐冰浴，逐渐升到室温，边自然升温边搅拌，保持pH不变约需5小时，然后再搅拌2小时，室温过夜。次日过滤，用1mol/L碳酸氢钠悬浮法洗涤沉淀3次，除去未反应的精氨酸，用冷水洗数次，至中性，乙醚洗2次，抽干后得湿重64g。用320mL沸水溶解沉淀，趁热过滤，在室温下重结晶，需经常去摇动，使结晶不成大的硬块，待结晶完全后过滤，于60℃干燥箱内干燥，得50g成品。产率为81%。

贮存 干燥密闭贮存。

参 考 文 献

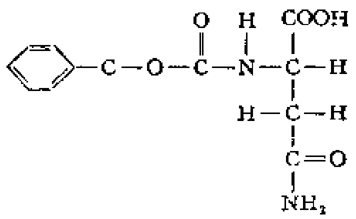
〔1〕 Boissonnas R. A. ea al; *Helv. Chim. Acta*, 41,1867(1958).

N^{α}-苄氧羰基天冬酰胺 Ⅱ-1(2)-0172

N^{α}-Benzyloxycarbonylasparagine

别名 Z-Asp; Cbz-Asp; N^{α}-carbobenzoxyasparagine

结构式



分子式 $C_{12}H_{14}N_2O_5$ **分子量** 266.26

理化性质 白色针状结晶。不溶于水；溶于沸水和二甲基甲酰胺（DMF）。

理化参数 熔点161～165℃。$[\alpha]^{20}_{546}$ +6.5±0.3°(C=1，乙酸中)。

制备方法[1] 30.7g 天冬酰胺溶于含 50g 碳酸氢钾的 440mL 蒸馏水中，置三颈瓶中，在30～40℃水浴中搅拌滴加5mol/L苄氧羰基氯44mL(过量10%)，维持pH8，35分钟滴加完毕，再搅拌2小时后，在冰浴中用100mL3mol/L盐酸酸化，水层的pH为2，搅拌下有固体析出，激烈搅拌半小时后过滤，并用650mL水分数次研磨洗涤沉淀，沉淀再用沸水溶解，放置冷却，有白色针状结晶析出，冰箱过夜，次日过滤，用100mL冷水洗涤得30g产品。产率67～71%。

贮存 干燥贮存。

参 考 文 献

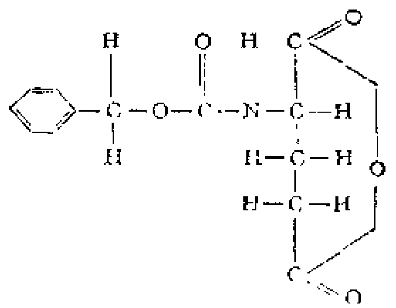
[1] Rittel, W., Iselin, B., Kappeler, H., Riniker, B. and Schwyzer, R.: *Helv. Chim. Acta*, 40, 614 (1957).

N^{α}-苄氧羰基-L-环谷氨酸 Ⅱ-1(2)-0173

N^{α}-benzyloxycarbonyl-L-pyroglutamic acid

别名 Z-pyro-Glu；*N* Benzyloxycarbonyl-cycloglutamic acid；ZpGluo N^{α}-苄氧羰基焦谷氨酸 *N* carbobenzoxypyroglutamic acid

结构式



分子式 $C_{13}H_{13}NO_5$ **分子量** 253.25

理化性质 白色针状结晶。不溶于水；溶于二甲基甲酰胺中。

理化参数 熔点137～139℃。$[\alpha]^{20}_{D}$ -29.1±1°(C=1，甲醇中)。

制备方法 100g（355mmol）苄氧羰基谷氨酸和400mL无水乙酸乙酯置三颈瓶中，冰浴中冷却，边搅拌边滴加77.5g二环己基碳二亚胺溶于200mL乙酸乙酯冷的溶液，加毕后置冰箱过夜，次日用醋酸调节至酸性，破坏剩余的二环己基碳二亚胺，而后过滤除去溶液中的沉淀，沉淀为二环己基脲，溶液浓缩成小体积后，加入石油醚至溶液浑浊，生成白色针状结晶，冰箱过夜，次日过滤，干燥后的产率为70%。

贮存 干燥贮存。

参 考 文 献

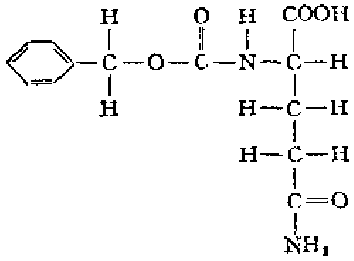
[1] Gibian, H. and Klieger, E.: *Ann. Chem.*, 640, 145 (1961).

N^{α}-苄氧羰基谷氨酰胺　　Ⅱ-1(2)-0174

N^{α}-Benzyloxycarbonylglutamine

别名　Z-Gln；Cbz-Glu N^{α}-carbobenzoxyglutamine

结构式



分子式　$C_{13}H_{16}N_2O_5$　　**分子量**　280.28

理化性质　白色固体。不溶于水；溶于二甲基甲酰胺。

理化参数　熔点134～136℃。

制备方法[1]　20g(137mmol) 谷氨酰胺和275mL1mol/L 碳酸氢钾置于1L三颈瓶中，搅拌使之溶解（约30分钟），然后，滴加30mL苄氧羰酰氯（5mol/L），半小时加毕，并以少量固体碳酸氢钾维持pH在8，待pH不变后，再继续搅拌30分钟，过滤除去固体盐，滤液用乙酸乙酯抽提除去末反应的苄氧羰酰氢，乙酸乙酯用量为80mL×3；水层在冰浴中冷却后，用浓盐酸缓缓滴加酸化到 pH2，防止因二氧化碳迅速释放而液体冲出容器。水层中有油状物析出，逐渐转化为固体，冰箱过夜，次日过滤，以100mL 冷水洗涤沉淀，用350mL 沸水重结晶，冷却后有白色固体析出。如有油状物可适量加水，使之成为固体，冰箱过夜待结晶完全，次日过滤，用100ml 冷水洗涤沉淀，干燥后产率为73%。

贮存　干燥保存。

参考文献

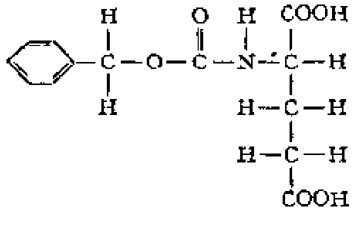
〔1〕 Beacham, J.; Dupuis, G. et al; *J. Am. Chem. Soc.* 93,5526(1971).

N^{α}-苄氧羰基谷氨酸　　Ⅱ-1(2)-0175

N^{α}-Benzyloxycarbonyl-L-glutamic acid

别名　Z-Glu Cbz-Glu；N^{α}-carbobenzoxy glutamic acid

结构式



分子式　$C_{13}H_{15}NO_6$　　**分子量**　337.38

理化性质 白色固体。不溶于水；溶于乙酸乙酯和二甲基甲酰胺。

理化参数 熔点 118～120℃。$[\alpha]_{540}^{20}$ −9.5（$C=4$，乙酸中）。

制备方法 100g（680mmol）谷氨酸和 340mL4mol/L氢氧化钠置于 1L 三颈瓶中，搅拌下溶解，盐冰浴冷却到 0℃，滴加 140mL 苄氧羰酰胺（5.4mol/L）（过量 10%），同时滴加 4mol/L氢氧化钠保持反应液pH不变，约需160mL（维持整个反应温度在 5℃ 以下），约 1 小时加毕，撤除冰浴，逐渐升至室温，再在室温下搅拌 2 小时，以乙醚抽提除去未作用的苄氧羰酰氯，用量为100mL×3，水相在冰浴中用浓盐酸酸化到pH2，用量约 120mL，而后在分液漏斗中用乙酸乙酯抽提 4 次共用500mL，合并 4 次抽提液用5%氯化钠溶液洗涤乙酸乙酯，至pH6，用无水硫酸钠干燥后，真空浓缩至小体积，研磨后得白色固体，产量为161g。

贮存 干燥贮存。

参 考 文 献

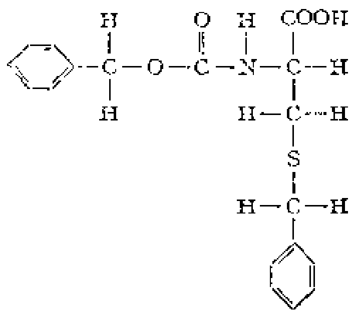
〔1〕 Goldschmidt, S and Jutz, C.; *Chem. Ber.*, 86, 1116(1953).

N^{α}-苄氧羰基-*S*-苄基半胱氨酸 Ⅱ-1(2)-0176

N^{α}-Benzyloxycarbonyl-*S*-Benzyl-cysteine

别名 *N*-Z-S-Bzl-Cys；Cbz-S-Bzl-Cys；N-carbobenzoxy-*S*-bebzyl-cysteine

结构式



分子式 $C_{18}H_{19}NO_4S$ **分子量** 345.42

理化性质 白色固体。不溶于水；溶于热苯和二甲基甲酰胺。

理化参数 熔点135～137℃；96～98℃。$[\alpha]_{546}^{20}$ −58°（$C=1$，乙酸中）；−36.6（$C=1$，乙醇中）。

制备方法[1] 52g(248mmol)S-苄基-半胱氨酸和250mL1mol/L氢氧化钠置于三颈瓶中搅拌溶解，如不全溶再加水约100mL，盐冰浴下搅拌，保持在5℃以下的温度，滴加41mL苄氧羰基氯（6.7mol/L）（过量10%），并用约200mL2mol/L氢氧化钠滴加保持其pH 为 8，如有乳浊液出现可适量加水消除，待苄氧羰基氯加完后，继续搅拌到溶液的 pH 不变，撤去冰浴，逐渐自然升至室温，再在室温下搅拌 2 小时，反应液倒入分液漏斗，用乙醚 150mL 抽提水相 3 次，除去未反应的苄氧羰基氯水相，在冰浴中冷却，用 20mL浓盐酸酸化到 pH1，此时出现油状物，研磨后油状物凝成固体，冰箱中过夜，次日过滤，用250mL 0.5mol/L 盐酸洗涤，固体以800mL水浸泡，过滤除去滤液，重复洗到滤出液为pH6，干燥后得固体73g，用200mL热苯溶解后冷却重结晶，熔点96～98℃。

贮存 干燥贮存。

参 考 文 献

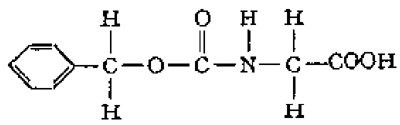
〔1〕 Zervas, I. et al: *J. Am. Chem. Soc.*, 85, 1337(1963).

N^{α}-苄氧羰基甘氨酸　　　Ⅱ-1(2)-0177

N^{α}-Benzyloxycarbonyl glycine

别名　Z-Gly；Cbz-Gly；N^{α}-carbobenzoxy glycine

结构式



分子式　$C_{10}H_{11}NO_4$　　　**分子量**　209.20

理化性质　白色固体粉末。不溶于冷水；溶于氯仿。

理化参数　熔点　118～120℃。

制备方法[1]　100g甘氨酸（1.33mol）和660mL 2mol/L 氢氧化钠溶液置于三颈瓶中，搅拌溶解，在冰浴下冷却到5℃，搅拌下滴加苄氧羰基氯 200mL（约1.4mol），同时滴加2mol/L氢氧化钠维持pH8，保持反应温度在5℃以下，加完后，除去冰浴，自然升至室温，继续室温下搅拌反应1小时，反应液置分液漏斗中用乙醚抽提3次，除去未反应的苄氧羰基氯，水层在冰浴下冷却，用115mL浓盐酸调到pH2，有油状物析出，冰箱过夜，次日成固体，过滤，用冷水洗涤沉淀到滤出液中性，干燥得209g粗品。熔点112～114℃。在氯仿中重结晶。熔点为118～190℃。

贮存　干燥贮存。

参 考 文 献

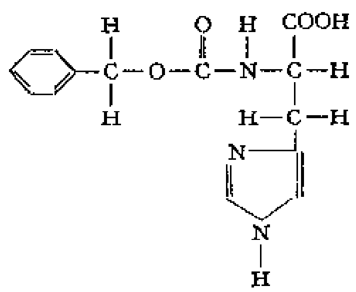
〔1〕 Anderson, G. W. and McGregor, A. C.: *J. Am. Chem. Soc.*, 79, 6180(1957).

N^{α}-苄氧羰基-L-组氨酸　　　Ⅱ-1(2)-0178

N^{α}-Benzyloxycarnyl-L-histidine

别名　Z-His；Cbz-His；N^{α}-carbobenzoxyhistidine

结构式



分子式　$C_{14}H_{15}N_3O_4$　　　**分子量**　289.29

理化性质　白色固体。不溶于水，溶于甲醇、二甲基甲酰胺。

理化参数 熔点164～165℃；含有1分子结晶甲醇的为105～107℃。$[\alpha]_{546}^{20}-28°$（$C=2$，6mol/L盐酸中）。

制备方法[1] 10.5g（50mmol）组氨酸单盐酸盐和2mol/L氢氧化钠50mL置于200 mL三颈瓶中，搅拌溶解后，用盐冰浴冷却到5℃以下，加入10 mL苄氧羰基氯（6mol/L）。同时用2mol/L氢氧化钠滴加以维持pH在9～10，边加边搅拌，加完后，除去盐冰浴，自然升温，在室温下继续搅拌20分钟，用乙醚萃取未反应的苄氧羰基氯，在冰浴下冷却反应液，用4 mol/L盐酸酸化，在pH2.4时有白色沉淀产生，放置数小时（或过夜），过滤得白色固体，用甲醇溶解、重结晶得16g含有1分子结晶甲醇的产品。

贮存 干燥贮存。

参 考 文 献

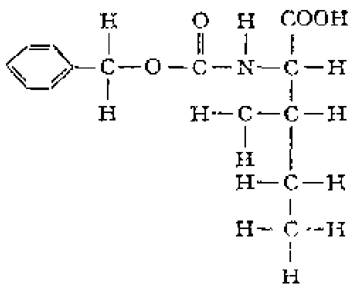
〔1〕 Fridlien, M.: *Can. J. Chem.*, 49, 1578(1971).

N^α-苄氧羰基-L-异白氨酸 Ⅱ-1(2)-0179

N^α-Benzyloxycarbonyl-L-isoleucine

别名 Z-Ile; Cbz-Ile; N^α-carbobenzoxyisoleucine

结构式



分子式 $C_{14}H_{19}NO_4$ **分子量** 265.31

理化性质 油状物。

理化参数 $[\alpha]_D+6.5$($C=6$，于醇中)。

制备方法[1] 25g异亮氨酸和100mL 2mol/L氢氧化钠于500mL三颈瓶中搅拌溶解，用盐冰浴冷却到5℃，搅拌下滴加42mL苄氧羰基氯（5mol/L），（过量10%）。同时滴加2mol/L氢氧化钠维持pH9，半小时加毕，待pH不变后，撤除冰浴，自然升至室温后再搅拌1小时，反应液用乙醚萃取除去未反应的苄氧羰基氯，水相用浓盐酸在冰浴下调节pH1～2，再用乙醚抽提水层4次。合并乙醚层，用5%氯化钠洗涤数次，用无水硫酸钠干燥，过滤，减压浓缩乙醚，得50g油状物，产率96%。

备注 商品常为二环己胺盐，为固体，以便贮存包装和运输。其结构式为 $CH_3CH_2CH(CH_3)CH(NHCO_2CH_2C_6H_5)CO_2H\cdot C_{12}H_{23}N$，英文名称 N^α-Benzyloxycarbonyl-isoleucine Dicyclohexylamine Salt，分子式$C_{14}H_{19}NO_4C_{12}H_{23}N$ 分子量446.64熔点159～160℃。

参 考 文 献

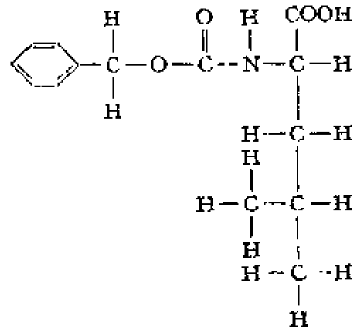
〔1〕 Sakakibara, S. and Fujino M.: *Bull. Chem. Soc.* (Jap.), 39, 947(1966).

N^{α}-苄氧羰基白氨酸　　Ⅱ-1(2)-0180

N^{α}-Benzyloxycarbonyl-L-leucine

别名　N^{α}-苄氧羰基亮氨酸；Z-Leu；Cbz-Leu；N^{α}-carbobenzoxylcucine

结构式



分子式　$C_{14}H_{19}NO_4$　　**分子量**　265.31

理化性质　油状物。

理化参数　$[\alpha]_D$ −16.4°(C=1.83，于乙醇中)。

制备方法　与ZILe（Ⅱ-1(2)-0179)制备方法同。

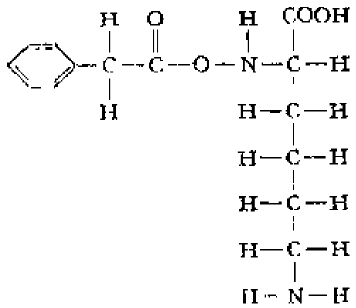
备注　见ZILe（Ⅱ-1(2)-0179)。

N^{α}-苄氧羰基赖氨酸　　Ⅱ-1(2)-0181

N^{α}-Benzyloxycarbonyl-lysine

别名　Z-Lys；Cbz-Lys；N^{α}-carbobenzoxylysine

结构式



分子式　$C_{14}H_{20}N_2O_4$　　**分子量**　280.33

理化性质　白色固体。不溶于石油醚；溶于热水、乙酸乙酯。

理化参数　熔点230～233℃(分解)。$[\alpha]^{20}_{546}$ −15°(C=2，0.2mol/L盐酸中)。

制备方法[1]　9.1g(50mmol) Lys·HCl于25mL 2mol/L/LiOH 溶液中，加入5.3mL 新蒸的苯甲醛振摇，待苯甲醛层消失，反应液变厚如固体，冰箱放置数小时，过滤，用冷水适量洗，再用少量乙醇洗涤沉淀，在五氧化二磷真空干燥器中干燥，得10g N^{ϵ}-苯甲醛赖氨酸，产率82%。熔点206～208℃。

100mL1mol/L 的 NaOH 溶液放入三颈瓶中，置盐冰浴中冷却至5℃，再加入23.4g(100 mmol)N^{ϵ}-苯甲醛赖氨酸，搅拌溶解，快速冷却至−5～−10℃，加入150mL预冷至−5℃的

1mol/L NaOH，及20mL冷却的苄氧羰基氯（5.4mol/L）激烈搅拌5分钟，再在－10℃下搅拌10分钟。撤除冰浴，速升至室温，在室温下搅拌10分钟，加25mL浓盐酸，混合物在50℃下搅拌5分钟，用乙酸乙酯抽提2次，合并乙酸乙酯层。于分液漏斗中用10mL水洗涤乙酸乙酯，并用10mol/L NaOH调节水层在pH6左右，分去水层，乙酸乙酯层减压浓缩到100mL，冰浴中放置数小时，过滤，沉淀用少量冷水洗涤，得20g产品，产率71%，熔点230～233℃。用水重结晶可得熔点为235～237℃的产品。

贮存 干燥贮存。

参 考 文 献

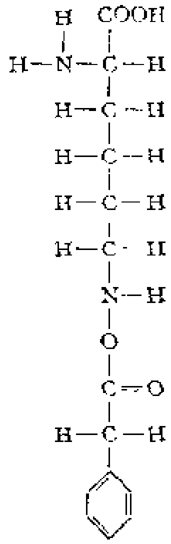
〔1〕 Costopanagiotis, A. A. et al: *J. Org. Chem.*, 33, 1261(1968).

N^{ε}-苄氧羰基-L-赖氨酸 Ⅱ-1(2)-0182

N^{ε}-Benzyloxycarbonyl-L-lysine

别名 *N*-Z-Lys；*N*-Cbz-Lys，N^{ε}-carbobenzoxylysine

结构式



分子式 $C_{14}H_{20}N_2O_4$ **分子量** 280.33

理化性质 白色固体。

理化参数 熔点278～280℃。$[\alpha]_D+17.3$（$C=2$，于2mol/L HCl溶液中）。

制备方法[1] 20g赖氨酸（109mmol）和22mL 5mol/L NaOH置于三颈瓶中，搅拌溶解，加55mL 0.5mol/L $CuSO_4$溶液，反应液呈深蓝色，同时再加55mL 2mol/L NaOH溶液，在盐冰浴下冷却后，滴加20mL苄氧羰基氯（6.1mol/L），同时滴加70mL 2mol/L NaOH维持pH8～9，当pH不变化后，撤除冰浴，自然升温，再在室温下搅拌2小时，过滤后沉淀用冷水洗涤，再用乙醚洗涤，得蓝色固体，将此固体与溶于250mL水中的乙二胺四乙酸的溶液共沸15分钟，过滤除去滤液，反复数次用乙二胺四乙酸的溶液洗涤，直到固体成白色为止。再用100mL1mol/LHCl溶液研磨溶解沉淀，过滤除去不溶物，不溶物再用50mL1mol/L HCl溶液再研磨溶解，过滤除去不溶物，合并二次滤液用吡啶调节到pH6，有白色沉淀产生，冰箱中放置数小时待沉淀完全后过滤，干燥得产品21g。

贮存 干燥贮存。

参 考 文 献

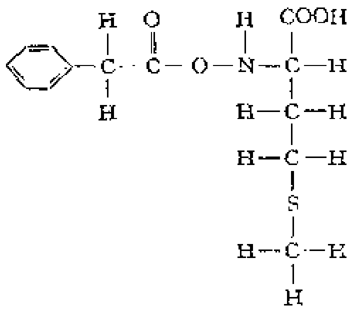
〔1〕 Ledger, R. and Stewart, F. H. C.: *Aust. J. Chem.*, 18, 933(1965).

N^{α}-苄氧羰基-L-甲硫氨酸 Ⅲ-1(2)-0183

N^{α}-Benzyloxycarbonyl-L-methionine

别名 Z-Met；Cbz-Met；N^{α}-carbobenzoxymethionine

结构式



分子式 $C_{13}H_{17}NO_4S$ **分子量** 283.55

理化性质 白色结晶。不溶于石油醚；溶于乙醇。

理化参数 熔点68～69℃。$[\alpha]_D -31.6(C=1$，甲醇)。

制备方法 34g甲硫氨酸溶于250mL1mol/L，氢氧化钠中，用盐冰浴冷却至0℃，在搅拌下滴加入苄氧羰基氯（6.7mol/L)41mL，并用2mol/L氢氧化钠保持pH8，待pH不变后，除去冰浴，至室温，继续搅拌2小时，用乙醚150mL/次抽提3次，除去未反应的氯化苄，水层在冰浴中用浓盐酸酸化到pH3，而后用150mL/次乙酸乙酯抽提3次，合并后，用无水硫酸钠干燥过夜，次日除去干燥剂，减压真空浓缩除去溶剂得白色固体，即为产品。

贮存 干燥贮存。

参 考 文 献

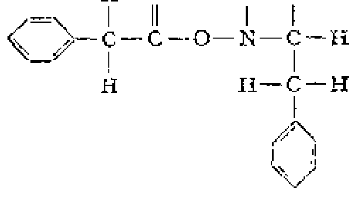
〔1〕 Brenner, M. and Pfister, R. W.: *Helv. Chim. Acta*, 34, 2085(1951).

N^{α}-苄氧羰基苯丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0184

N^{α}-Benzyloxycarbonyl-L-phenylalanine

别名 Z-Phe；Cbz-Phe；N^{α}-carbobenzoxyphenylalanine

结构式



分子式 $C_{17}H_{17}NO_4$ **分子量** 299.33

理化性质 白色结晶。不溶于石油醚、水。溶于乙酸乙酯、二甲基甲酰胺。

理化参数 熔点85°±3℃。$[\alpha]_{546}^{20}+6°(C=5$，乙酸中)。

制备方法 5g苯丙氨酸溶于15mL 2mol/L的氢氧化钠溶液中，盐冰浴冷却到0℃，滴加入6mL 6mol/L的苄氧羰基氯，边加边搅拌，使反应湿度保持在0～5℃之间，用2mol/L氢氧化钠使pH保持在10，加毕后除去盐冰浴升到室温，继续搅拌2小时，用乙醚除去未反应的苄氧羰基氯，而后在冰浴中冷却，以6mol/L盐酸调节溶液到pH3，以乙酸乙酯抽提3次，合并抽提液，用无水硫酸钠干燥过夜，次日过滤除去干燥剂，减压浓缩成小体积，而后加入等体积的石油醚，得白色结晶，产率80%。

参 考 文 献

〔1〕 Grassman, W. and Wunsch, E.: *Chem. Ber.*, 91, 462, (1958).

N^{α}-苄氧羰基-L-脯氨酸 Ⅱ-1(2)-0185

N^{α}-Benzyloxycarbonyl-L-proline

别名 Z-Pro；Cbz-Pro；*N*-carbobenzoxyproline

结构式



分子式 $C_{13}H_{15}NO_4$ **分子量** 249.27

理化性质 白色结晶。不溶于石油醚；溶于乙酸乙酯。

理化参数 熔点75～77℃。$[\alpha]_{546}^{20}-71(C=5$，酸中)。

制备方法 30g脯氨酸和132mL 2mol/L氢氧化钠溶液置于三颈瓶中，盐冰浴冷却到5℃，滴加苄氧羰基氯过量20%，其他操作同前N^{α}-苄氧羰基-L-丙氨酸（Ⅱ-1(2)-0170)。用乙酸乙酯加石油醚得结晶，产品得43g。

贮存 干燥避光保存。

参 考 文 献

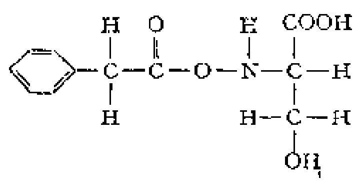
〔1〕 Schroder, E.: *Ann. Chem.*, 692, 241(1966).

N^{α}-苄氧羰基-L-丝氨酸 Ⅱ-1(2)-0186

N^{α}-Benzyloxycarbonyl-L-serine

别名 Z-Ser；Cbz-Ser；N^{α}-carbobenzoxyserine

结构式



分子式 $C_{11}H_{13}NO_5$ **分子量** 239.23

理化性质 白色结晶。不溶于石油醚；溶于乙酸乙酯。

理化参数 熔点116～119℃。$[\alpha]_D^{25}+8$($C=7$，酸中)。

制备方法 49g丝氨酸（419mmol）和450mL1mol/L氢氧化钠溶液置三颈瓶中溶解，盐冰浴下冷却到5℃，搅拌下滴加74mL苄氧羰基氯（6.5mol/L）和4mol/L氢氧化钠溶液约100mL，整个反应的pH维持在8～9，加毕继续搅拌到pH不变化，撤除冰浴升至室温，再搅拌1小时，反应液置分液漏斗中用乙醚抽提3次，水层冰浴下用6mol/L盐酸酸化，有固体析出后冰箱放置，次日过滤得白色结晶74g，母液回收可得14g。

贮存 干燥保存。

参 考 文 献

〔1〕 Wunsch, E. and Jentsch, J.: *Chem. Ber.*, 91, 2490(1964).

N^{α}-苄氧羰基-L-苏氨酸 Ⅱ-1(2)-0187

N^{α}-Benzyloxycarbonyl-L-threonine

别名 Z-Thr；Cbz-Thr；N^{α}-carbobenzoxythreonine

结构式 $CH_3CH(OH)CH(NHCO_2CH_2C_6H_5)COOH$

分子式 $C_{12}H_{15}NO_5$ **分子量** 253.26

理化性质 白色结晶。不溶于石油醚；溶于乙酸乙酯。

理化参数 熔点99～102℃。$[\alpha]_D^{20}-5.5$($C=4$，醋酸中)。

制备方法 72g苏氨酸溶于606mL1mol/L氢氧化钠中，盐冰浴中搅拌加入94mL 6.7mol/L苄氧羰基氯，同时以1mol/L氢氧化钠调到pH8～9，加毕后，室温继续反应2小时，用乙醚除去未反应的苄氧羰基氯，冰浴中用6mol/L盐酸酸化，乙酸乙酯抽提，合并抽提液，干燥后减压浓缩成小体积，加入石油醚，得结晶150g。

贮存 干燥保存。

参 考 文 献

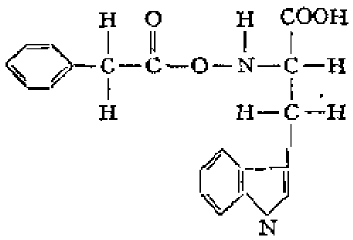
〔1〕 Roecbi, R. et al: *Gazz. Chim. Ital.*, 93, 823(1963).

N^{α}-苄氧羰基-L-色氨酸 Ⅱ-1(2)-0188

N^{α}-Benzyloxycarbonyl-L-tryptophen

别名 Z-Trp；Cbz-Trp；N^{α}-carbobenzoxytryptophan

结构式



分子式 $C_{19}H_{18}N_2O_4$ **分子量** 338.37

理化性质 白色结晶。不溶于石油酸；溶于乙醚、乙酸乙酯。

理化参数 熔点125～127℃。$[\alpha]^{20}_{D}$ 3.5(C=3，乙酸中)。

制备方法 20g 色氨酸和100mL1mol/L氢氧化钠溶解后，置三颈瓶中冷却到0℃，滴加入14.3mL苄氧羰基氯（7mol/L），同时滴加1mol/L氢氧化钠（约90mL）保持pH9，加毕后当pH不变后，升至室温继续搅拌2小时，用乙醚抽提少于3次，除去残余苄氧羰基氯，水层在冰浴中冷却，用约10mL的6mol/L盐酸酸化到pH5，用乙酸乙酯抽提3次，合并抽提液用无水硫酸钠干燥，减压浓缩到小体积，加入石油醚，有白色结晶析出，冰箱过夜，过滤收集沉淀，干燥得24g。

整个操作要避光进行。

贮存 避光干燥贮存。

参 考 文 献

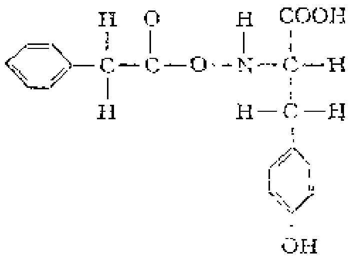
〔1〕 Klieger, E. et al; *Ann. Chem.*, 640, 157(1961).

N^{α}-苄氧羰基-L-酪氨酸 Ⅱ-1(2)-0189

N^{α}-Benzyloxycarbonyl-L-tyrosine

别名 Z-Tyr；Cbz-Tyr；N^{α}-carbobenzoxytyrosine

结构式



分子式 $C_{17}H_{17}NO_5$

理化性质 白色固体。不溶于石油醚、水。溶于二甲基甲酰胺。

理化参数 熔点 84℃；92～94℃。

制备方法 36.2g酪氨酸（200mmol）于100ml 2mol/L氢氧化钠中全溶后，置三颈瓶中，盐冰浴冷却到5℃，在剧烈搅拌下，滴加400mmol的苄氧羰基氯，1小时加毕，再加入100mL 4mol/L氢氧化钠后再反应1小时，加入300mL水置分液漏斗中，用乙醚抽提3次，除去残存的苄氧羰基氯，水层再加入4mol/L氢氧化钠100mL，在30℃保温皂化1小时，除去酚基上的保护基团。在冰浴中冷却反应液，以浓盐酸酸化到pH2，水层用乙醚抽提3次，合并抽提液，减压浓缩得油状物，而后用1mol/L氢氧化钠溶解油状物，再在冰浴中冷却，用浓盐酸再酸化，得油状物，将其置冰水中待固化，换去上层冰水，研磨后，得白色结晶，产量56g。

贮存 干燥保存。

参 考 文 献

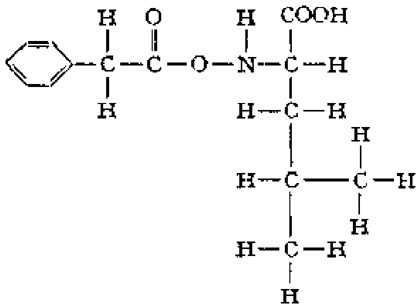
〔1〕 Wunsch, E. and Jentsch, J.; *Chem. Ber.*, 97, 2490(1964).

N^{α}-苄氧羰基-L-缬氨酸　Ⅱ-1(2)-0190

N^{α}-Benzyloxycarbonyl-L-valine

别名　Z-Val　Cbz-Val　N^{α}-carbobenzyoxyvaline

结构式



分子式　$C_{13}H_{17}NO_4$　　**分子量**　251.28

理化性质　白色结晶。不溶于石油醚；溶于乙酸乙酯。

理化参数　熔点60～62℃。$[\alpha]_{546}^{20}-4.0(C=2$，酸中)。

制备方法　22g缬氨酸溶于95mL 2mol/L氢氧化钠中，盐冰浴冷却到0℃，滴加30mL 6.7mol/L苄氧羰基氯（过量10%），保持反应温度在0～5℃，同时滴加2mol/L氢氧化钠维持pH9，滴加完毕后除去盐冰浴，升至室温，继续搅拌反应2小时，用乙醚除去未反应的苄氧羰基氯，用盐酸在冰浴中酸化到pH3，而后用乙酸乙酸抽提3次，抽提液合并后干燥，次日过滤，滤液真空浓缩除去，得白色固体13.3g。

贮存　干燥密闭贮存。

参考文献

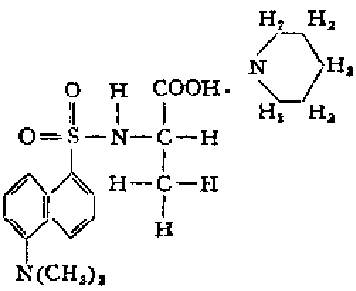
〔1〕 Schroder, E.: *Ann. Chem.*, 692, 241(1966).

丹磺酰-L-丙氨酸哌啶盐　Ⅱ-1(2)-0191

Dansyl-L-alanine piperidine salt

别名　5-二甲氨基萘磺酰丙氨酸氮己环盐；丹色丙氨酸氮己环盐；Dans-Ala pd

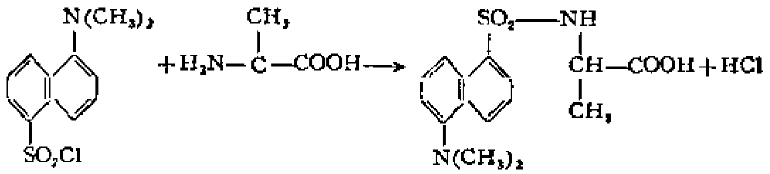
结构式



分子式　$C_{15}H_{18}N_2O_4S\cdot C_5H_{11}N$　　**分子量**　407.54（除去哌啶盐分子量为322.39）

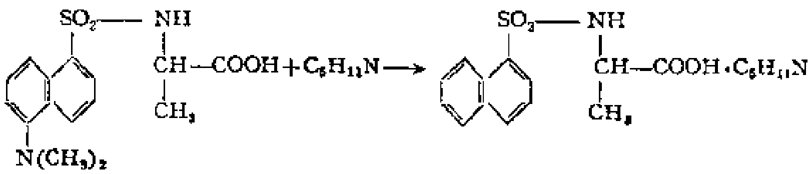
制备方法

1.



反应条件pH在9.5～10，室温，振荡数小时后反应完毕。

2.



反应液加入$C_5H_{11}N$后，即有白色沉淀产生。

贮存 避光干燥。

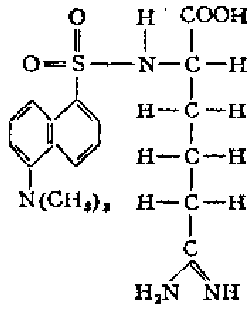
用途 氨基酸超微量检测标准。

N^{α}-丹磺酰-L-精氨酸　　Ⅱ-1(2)-0192

N^{α}-Dansyl-L-arginine

别名 N^{α}-5-二甲氨基萘磺酰精氨酸；Dans-Arg

结构式



分子式 $C_{18}H_{25}N_5O_4S$　　**分子量** 337.46

制备方法 将10mmol的精氨酸盐酸盐溶于2mL水中，用碳酸钠调节pH9.5，而后滴加入过量10%的丹磺酰氯丙酮溶液，反应在室温振荡2小时，减压浓缩除去溶剂即可得产品。

用途 氨基酸超微量测定标准品。

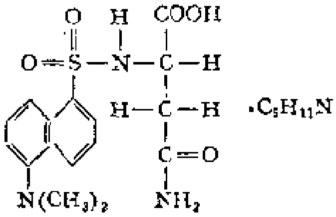
贮存 避光密闭贮存。

丹磺酰-L-天冬酸酸哌啶盐　　Ⅱ-1(2)-0193

Dansyl-L-asparagine piperidine salt

别名 5-甲氨基萘磺酰天冬酰胺氮己环盐；Dans-Asn pd

结构式



分子式 $C_{16}H_{20}N_3O_5S \cdot C_5H_{11}N$ **分子量** 451.57（除去盐的分子量为366.42）

理化性质 熔点为195℃（分解）。

制备方法 见Dansp-Ala（Ⅱ-1(2)-0191）的制备。

用途 用于氨基酸超微量检测标准。

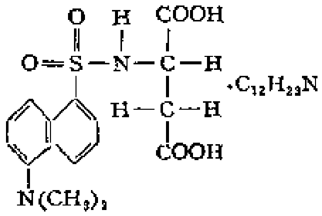
贮存 避光干燥贮存。

丹磺酰-L-天冬氨酸二环己胺盐 Ⅱ-1(2)-0194

Dansyl-L-Aspartic acid Dicyclohexylamine

别名 5-二甲氨基萘磺酰天冬氨酸二环己胺盐 Dans-Asp DCHA

结构式



分子式 $C_{16}H_{18}N_2O_6S \cdot C_{12}H_{23}N$ **分子量** 547.72（去盐的为366.4）

理化性质 熔点138～140℃。

制备方法 1g的天冬氨酸溶于蒸馏水中，以碳酸钠调节pH8.5，加入过量10%的丹磺酰氯的丙酮溶液，丙酮溶液的体积和天冬氨酸的体积是相同的，在室温下，振荡反应2小时，而后减压浓缩除去溶剂得产品为油状，加入二环己胺得白色沉淀，过滤即得产品。

贮存 避光干燥贮存。

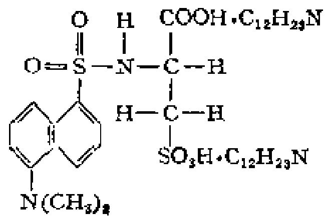
用途 用作氨基酸超微量检测标准。

N^{α}-丹磺酰-L-半胱磺酸双二环己胺盐 Ⅱ-1(2)-0195

N^{α}-Dansyl-L-cysteic acid bis-dicyclohexylamine salt

别名 N-5-二甲氨基萘磺酰磺基丙氨酸双二环己胺盐；Dans-Cyso$_3$H-bDCHA

结构式



分子式 $C_{39}H_{64}N_4O_7S$。 **分子量** 765.10（除去双盐为402.45）

制备方法 磺基丙氨酸按丙氨酸的方法（Ⅱ-1(2)-0191)和丹磺酰氯反应后，加入2.1倍的环己胺，得白色沉淀，即为产品。

用途 用作氨基酸超微量检测标准。

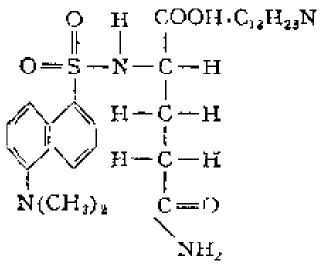
贮存 避光干燥贮存。

N^{α}-丹磺酰谷氨酰胺二环己胺盐 Ⅱ-1(2)-0196

N^{α}-Dansyl-L-glut mine dicyclohexylamine

别名 N^{α}-5-甲氨基萘磺酰谷氨酰胺二环己胺盐；Dans-Gln DCHA

结构式



分子式 $C_{17}H_{21}N_3O_5S \cdot C_{12}H_{23}N$。 **分子量** 560.76（去盐的为475.61）

理化性质 熔点200～202℃(分解)。

制备方法 见前丹磺酰天冬氨酸（Ⅱ-1(2)-0193)的制备。

用途 用作氨基酸超微量检测标准。

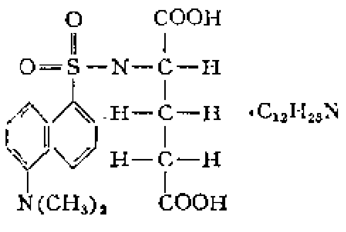
贮存 避光干燥贮存。

丹磺酰-L-谷氨酸二环己胺盐 Ⅱ-1(2)-0197

Dansyl-L-glutamic acid dicyclohexylamine salt

别名 5-二甲氨基萘黄酰谷氨酸二环己胺盐；Dans-Glu DCHA

结构式



分子式 $C_{17}H_{20}N_2O_6S \cdot C_{12}H_{23}N$。 **分子量** 561.75（去盐为384.43）

理化性质 熔点166～168℃。

制备方法 见前丹磺酰天冬氨酸（Ⅱ-1(2)-0193）的制备。

用途 同Ⅱ-1(2)-0198。

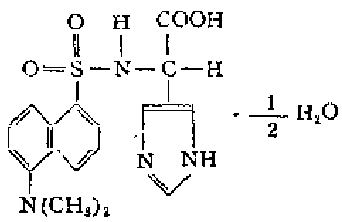
贮存 避光干燥保存。

N^{α}-丹磺酰组氨酸　　Ⅱ-1(2)-0198

N^{α}-Dansyl-histidine

别名　N^{α}-二甲氨基萘磺酰组氨酸；Dans-His

结构式



分子式　$C_{18}H_{20}N_4O_4S \cdot \frac{1}{2}H_2O$。　　**分子量**　397.46

制备方法　参阅丹磺酰丙氨酸（Ⅱ-1(2)-0191)的制备。

用途　用作氨基酸超微量检测标准。

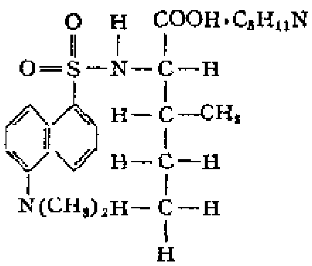
贮存　避光干燥贮存。

丹磺酰-L-异白氨酸哌啶盐　　Ⅱ-1(2)-0199

Dansyl-L-isoleucine piperidine salt

别名　5′-二甲氨基萘磺酰异白氨酸氮己环盐；Dans-Ile pd；5′-二甲氨基萘磺酰异亮氨酸氮己环盐；丹磺酰-L-异亮氨酸哌啶盐

结构式



分子式　$C_{18}H_{24}N_2O_4S \cdot C_5H_{11}N$　　**分子量**　449.62（去盐的364.47）

理化性质　熔点　161～163℃。

制备方法　见Dansala（Ⅱ-1(2)-0191)的制备方法。

用途　用于微量检测标准品。

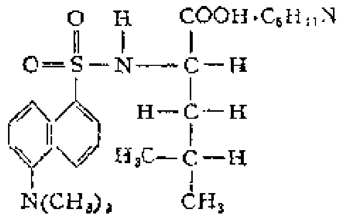
贮存　避光干燥贮存。

丹磺酰白氨酰哌啶盐　　Ⅱ-1(2)-0200

Dansyl-L-leucine piperidine salt

别名　5′-二甲氨基萘磺酰亮氨酸氮己环盐；Dans-Leu pd；5′-二甲氨基萘磺酰白氨酸氮己环盐；丹磺酰亮氨酸哌啶盐

结构式



分子式 $C_{18}H_{24}N_2O_4S \cdot C_5H_{11}N$ **分子量** 449.62（去盐的364.47）

理化性质 DL型熔点161～163℃。

制备方法 1 m mol亮氨酸和 12 m mol 碳酸氢钠溶于 20mL水中，加入3.7m mol丹磺酰氯（DAns-Cl）于30mL二氧六环的溶液，振荡反应数小时可得DAnsyl·Len，加入哌啶可得白色沉淀。即Dans-Len pd.

用途 同Ⅱ-1(2)-0199。

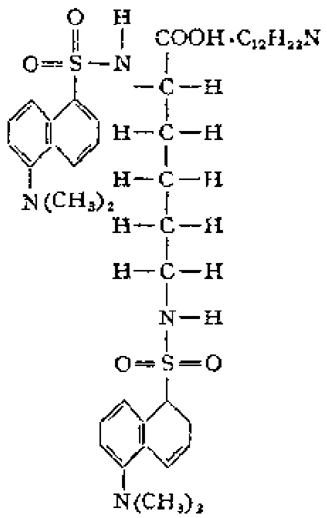
贮存 避光干燥贮存。

N^{α}, N^{ϵ}-二丹磺酰赖氨酸二环己胺盐 Ⅱ-1(2)-0201

N^{α}, N^{ϵ}-Didansyl-L-lysine dicyclohexylamine salt

别名 N^{α}, N^{ϵ}-5′-二甲氨基萘磺酰赖氨酸二环己胺盐

结构式



分子式 $C_{30}H_{36}N_4O_6S_2 \cdot C_{12}H_{23}N$ **分子量** 794.09（去盐的612.77）

制备方法 见Dano-Arg（Ⅱ-1(2)-0192）的制备方法。

用途 同Ⅱ-1(2)-0200。

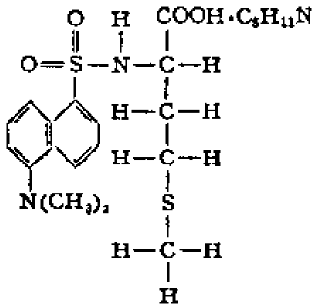
贮存 避光干燥贮存。

丹磺酰甲硫氨酸哌啶盐 Ⅱ-1(2)-0202

Dansyl-L-methionine piperidine salt

别名 5′-二甲氨基萘磺酰甲硫氨酸氮己环盐；Dans-Met pd。

结构式



分子式　$C_{17}H_{22}N_2O_4S_2 \cdot C_5H_{11}N$　　分子量　435.59（去盐的350.44）

理化性质　熔点171～172℃。

制备方法　见Dano ala（Ⅱ-1(2)-0191）。

用途　同Ⅱ-1(2)-201。

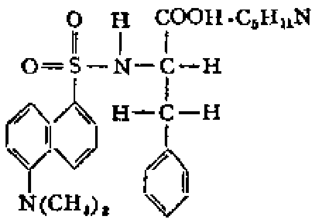
贮存　避光干燥贮存。

丹磺酰苯丙氨酸哌啶盐　Ⅱ-1(2)-0203

Dansyl-L-phenylalanine piperidine salt

别名　5′-二甲氨基萘磺酰苯丙氨酸氮己环盐，Dans-Phe pd

结构式



分子式　$C_{21}H_{22}N_2O_4S \cdot C_5H_{11}N$　　分子量　483.64（去盐398.49）

理化性质　熔点　176～179℃。

制备方法　见Dano ala（Ⅱ-1(2)-0191）的制备方法。

用途　用作超微量检测氨基酸的标准品。

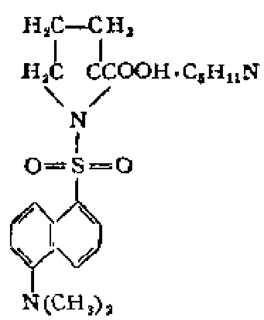
贮存　避光干燥贮存。

丹磺酰脯氨酸哌啶盐　Ⅱ-1(3)-0204

Dansyl-L-proline piperidine salt

别名　5′-二甲氨基萘磺酰脯氨酸氮己环盐，Dans-Por pd

结构式



分子式 $C_{17}H_{20}N_2O_4S \cdot C_5H_{11}N$　　**分子量** 445.59（去盐的360.44）

理化性质　熔点155～157℃。

制备方法　同Dano·ala（Ⅱ-1(2)-0191）的制备方法。

用途　同Ⅱ-1(2)-0203。

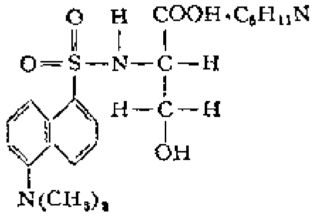
贮存　避光干燥贮存。

丹磺酰丝氨酸哌啶盐　　Ⅱ-1(2)-0205

Dansyl-L-serine piperidine salt

别名　5′-二甲氨基萘磺酰丝氨酸氮己环盐；Dans-Ser

结构式



分子式 $C_{15}H_{18}N_2O_5S \cdot C_5H_{11}N$　　**分子量** 423.54（去盐的338.39）

理化性质　熔点200～202℃(分解)。

制备方法　同Dano ala（Ⅱ-1(2)-0191）的制备。

用途　同Ⅱ-1(2)-0204。

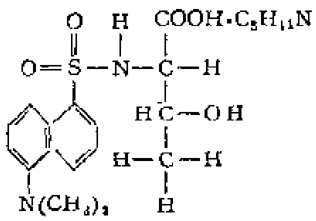
贮存　避光干燥贮存。

丹磺酰苏氨酸哌啶盐　　Ⅱ-1(2)-0206

Dansyl-L-threonine piperidine salt

别名　5′-二甲氨基萘磺酰苏氨酸氮己环盐；Dans-Thr pd

结构式



分子式 $C_{16}H_{20}N_2O_5S \cdot C_5H_{11}N$　　**分子量** 437.56（去盐352.41）

理化性质　熔点170～172℃。

制备方法　同Dano ala（Ⅱ-1(2)-0191）的制备。

用途　同Ⅱ-1(2)-0205。

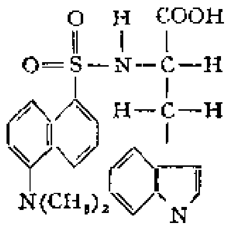
贮存　避光干燥贮存。

N^{α}-丹磺酰色氨酸哌啶盐 Ⅱ-1(2)-0207

N^{α}-Dansyl-L-tryptophan piperidine salt

别名 5′-二甲氨基萘磺酰色氨酸氮己环盐；Dans-Trp pd

结构式



分子式 $C_{21}H_{23}N_2O_4S \cdot C_5H_{11}N$ **分子量** 522.67（去盐437.52）

理化性质 熔点100～102℃(分解)。

制备方法 同Ⅱ-1(2)-206。

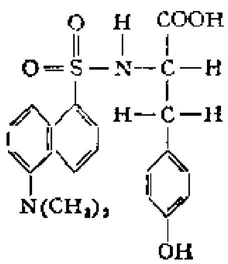
贮存 避光干燥保存。

丹磺酰酪氨酸 Ⅱ-1(2)-0208

N-Dansyl-tyrosine

别名 5′-二甲氨基萘磺酰酪氨酸；Dans-Tyr

结构式



分子式 $C_{21}H_{22}N_2O_5S$ **分子量** 414.48

制备方法 同Dano·ala（Ⅱ-1(2)-0191)。

用途 同Ⅱ-1(2)-0207。

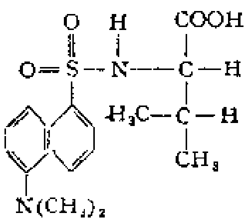
贮存 避光干燥贮存。

丹磺酰缬氨酸哌啶盐 Ⅱ-1(2)-0209

N-Dansyl-L-valine piperidine salt

别名 5′-二甲氨基萘磺酰缬氨酸氮己环盐；Dans-Val pd

结构式



分子式 $C_{17}H_{22}N_2O_4S \cdot C_5H_{11}N$　　**分子量** 435.59（去盐的350.44）

理化性质 熔点140～141℃。

制备方法 同Dano ala Ⅱ-1(2)-0191。

用途 同Ⅱ-1(2)-0208。

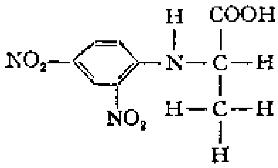
贮存 避光干燥贮存。

N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-丙氨酸　　Ⅱ-1(2)-0210

N^{α}-2,4-Dinitrophenyl-L-alanine

别名 DNP-Ala

结构式

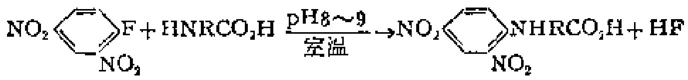


分子式 $C_9H_9N_3O_6$　　**分子量** 255.19

理化性质 可从乙醚与石油醚中得到黄色的结晶。溶于碱性水、丙酮、甲醇、乙醇和乙醚；不溶于水和石油醚。

理化参数 熔点177～178℃。$[\alpha]_D^{21}$ +143.8°（C=0.2～1，1 mol/L氢氧化钠溶液中）。$[\alpha]_D^{21}$ +15.3°（C=0.2～1，冰乙酸中）。ε_{360}1.38×10^4（1%碳酸氢钠溶液中）。

制备方法[1]



二硝基氟苯（FDNB）0.56mL溶解于10mL乙醇，加到0.2g丙氨酸与0.8g的碳酸氢钠溶于5mL水的溶液中，室温振摇2小时，减压除去乙醇，用乙醚抽尽过量的二硝基氟苯，把水溶液用盐酸酸化后即有油状物沉出，用少量冰水洗涤除去盐酸，将沉淀溶于适量的丙酮中，用无水硫酸钠干燥过夜，次日滤去硫酸钠，加入等体积的无水苯，再慢慢滴加过量石油醚，即有DNP-Ala析出。将沉淀滤出用石油醚洗涤1次，再将沉淀溶于乙醚中，滴加石油醚使之结晶沉出，反复数次后可得黄色结晶。

贮存 避光贮存。

备注 二硝基苯DL-丙氨酸熔点172～173℃。

参 考 文 献

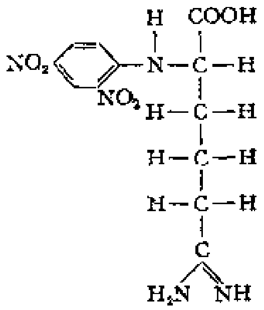
〔1〕 潘家秀等编著：《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，96页，1962年。

N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-精氨酸　　Ⅱ-1(2)-0211

N^{α}-2,4-Dinitrophenyl-L-arginine

别名 DNP-Arg

结构式



分子式 $C_{12}H_{16}N_6O_6$ **分子量** 340.30

理化性质 可从丙酮/水溶液中得到黄色结晶。不溶于石油醚，溶于丙酮。

理化参数 熔点252℃（分解）。从浓盐酸中可得到熔点为168 ℃的结晶。$[\alpha]_D^{25}$ 35.6°(C=0.2～1，冰乙酸中)。ε_{360}1.46×10^4（于1%碳酸氢钠中）；ε_{360}1.76×10^4(1mol/L氢氧化钠溶液中)。

制备方法[1] 0.2 g的L-精氨酸与0.4 g的碳酸氢钠溶于5mL水中，在此溶液中加入0.28mL二硝基氟苯（FDNB）溶于10mL乙醇的溶液，室温振摇2小时，减压除去乙醇，用乙醚抽提除去过量的二硝基氟苯，水层用盐酸酸化后，即有油状物产生，此油状物很快会形成黄色固体，将此固体溶于丙酮中，滴加水使其混浊放置后有结晶析出即为DNP-Arg。

贮存 避光保存。

备注 DNP-DL-Arg 熔点172～173℃；盐酸盐168℃。

参 考 文 献

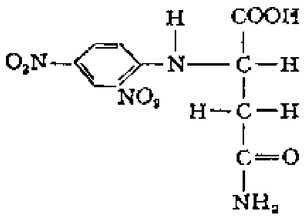
〔1〕 潘家秀等编著：蛋白质化学研究技术，科学出版社，96页，1962年。

N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-天冬酰胺 Ⅱ-1(2)-0212

N^{α}-2,4-Dinitrophenyl-L-Asparagine

别名 DNP-Asn

结构式



分子式 $C_{10}H_{10}N_4O_7$ **分子量** 298.21

理化性质 可在甲醇或乙醇溶液中得到黄色结晶。溶于甲醇、乙醇、丙酮和乙酸中；不溶于水、石油醚。

理化参数 熔点191～192℃；在乙酸/水溶液中结晶，其熔点为180～182 ℃。$[\alpha]_D^{25}$+63.7°(C=0.2～1，1mol氢氧化钠中)，$[\alpha]_D^{25}$-33.5°(C=0.2～1，冰乙酸中)。ε_{360}2.00×10^4(1mol/L氢氧化钠溶液)。

制备方法 和DNP-Ala（Ⅱ-1(2)-0210）制备方法相同。酸化后的大量固体析出，过滤，以大量冰水洗涤，再在甲醇中溶解，减压浓缩成小体积，即有黄色结晶析出，过滤干燥即为

产品。

贮存　避光贮存。

参　考　文　献

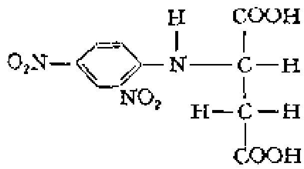
〔1〕 潘家秀等编著：蛋白质化学研究技术，科学出版社，92页，1962年。

N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-天冬氨酸　　　　Ⅱ-1(2)-0213

N^{α}-2,4-Dinitrophenyl-L-aspartic acid

别名　DNP-Asp

结构式



分子式　$C_{10}H_9N_3O_8$　　　　**分子量**　299.20

理化性质　在乙醚/石油醚的溶液中得黄色结晶。溶于乙醚、乙酸乙酯和丙酮；不溶于石油醚。

理化参数　熔点186～187℃。$[\alpha]_{D}^{22}$ +91.90(C=0.2，1 mol/L 氢氧化钠溶液)，$[\alpha]_{D}^{22}$ 6.7°(C=1，冰乙酸中)。ε_{360nm} 1.59×10^4(1%碳酸氢钠中)；1.82×10^4(1mol/L 氢氧化钠中)。

制备方法　参阅DNP-Ala（Ⅱ-1(2)-0210）的制备方法。

贮存　避光保存。

备注　DNP-DL-ASP 熔点196℃(分解)。

参　考　文　献

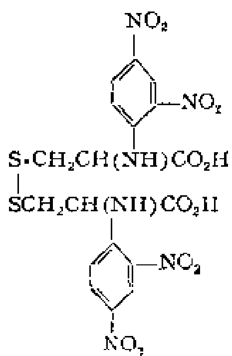
〔1〕 潘家秀等编著：《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，92页，1962年。

N^{α},N^{α}-二-2,4-二硝基苯基胱氨酸　　　　Ⅱ-1(2)-0214

N^{α},N^{α}-Di(2,4-dinitrophenyl)-L-cystine

别名　diDNP-Cyss

结构式



分子式　$C_{15}H_{16}N_6O_{12}S_2$　　　　**分子量**　572.49

理化性质 从乙酸/水溶液或乙醚/石油醚中可得到黄色结晶。溶于乙醚、丙酮，不溶于石油醚。

理化参数 熔点109℃或118～121℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}$ - 260(C=0.1，1 mol/L 氢氧化钠)，$[\alpha]_D^{25}$320°(C=0.1，冰乙酸)。ε_{360}2.75×10^4(1mol/L氢氧化钠)。

制备方法 参阅DNP-Ala（Ⅱ-1(2)-0210）的制备方法。

贮存 避光保存。

备注 DNP-$Cysso_3$可从DiDNP-Cyss在甲酸中氧化制得，在乙醚/乙醇（2/1）混合液中结晶。

参 考 文 献

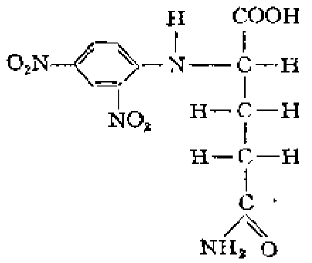
〔1〕 潘家秀等编著：《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，94页，1962年。

N$^\alpha$-2,4-二硝基苯基-L-谷氨酰胺 Ⅱ-1(2)-0215

N$^\alpha$-2,4-Dinitrophenyl-L-Glutamine

别名 DNP-Gln

结构式



分子式 $C_{11}H_{12}N_4O_7$ **分子量** 312.24

理化性质 在甲醇/水溶液中得到黄色结晶。溶于甲醇、丙酮，不溶于石油醚。

理化参数 熔点189～191℃。$[\alpha]_D^{25}$ - 56.7°（C=0.2 1 mol/L 氢氧化钠中）；$[\alpha]_D^{25}$ - 96.7°（C=0.2，于冰乙酸中）。ε_{360}nm2.07×10^4(1mol/L氢氧化钠中)。

制备方法 与DNP-Ash（Ⅱ-1(2)-0212）相同。重结晶用甲醇溶解后可滴加水使其结晶。

贮存 避光贮存。

参 考 文 献

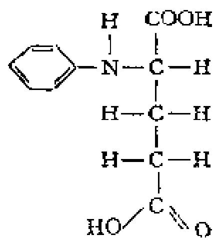
〔1〕 潘家秀等编著：《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，92页，1962年。

N$^\alpha$-2,4-二硝基苯基-L-谷氨酸 Ⅱ-1(2)-0216

N$^\alpha$-2,4-Dinitrophenyl-L-glutamic acid

别名 DNP-Glu

结构式



分子式 $C_{11}H_{11}N_3O_5 \cdot H_2O$ **分子量** 331.24

理化性质 在乙酸乙酯/氯仿中可得黄色结晶。溶于丙酮、乙酸乙酯、甲醇、乙醇；不溶于石油醚。

理化参数 熔点134～136℃。$[\alpha]_D^{24}$ −17.5°(C=1，1mol/L氢氧化钠中)。$[\alpha]_D^{24}$ 119.6°(C=0.2，冰乙酸中)。ε_{360}nm1.74×10⁴(DL型1mol/L氢氧化钠中)。

制备方法 DNP-L-glu不易直接从glu与二硝基氟苯作用后得到结晶，常用DNP-L-gln水解后来制备。将DNP-L-Gln在10倍体积的6mol/L氯化氢中浸一夜，在水浴上加热，待其溶解立即停止加热，而后迅速冷却即可得油状物，在冰箱中放置几星期后，会自然结晶出来，过滤，用冷水洗净残留的盐酸后，在五氧化二磷的真空干燥器中干燥。操作要避光。

贮存 避光保存。

备注 DNP-DL-Glu155～162℃。

参 考 文 献

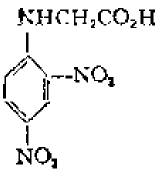
〔1〕 潘家秀等编著：《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，92页，1962年。

N$^{\alpha}$-2,4-二硝基苯基甘氨酸 Ⅱ-1(2)-0217

N$^{\alpha}$-2,4-Dinitrophenylglycine

别名 DNP-Gly

结构式



分子式 $C_8H_7N_3O_6$ **分子量** 241.16

理化性质 可从水中，丙酮/石油醚中，甲醇/水中，或乙醇中得到黄色结晶。溶于甲醇、乙醇和丙酮；不溶于石油醚、水。

理化参数 熔点192～193℃（分解）或200℃（分解）。ε_{360}nm1.64×10⁴（1%碳酸氢钠中）；1.58×10⁴(1mol/L氢氧化钠中)。

制备方法[1] 参阅DNP-Ala(Ⅱ-1(2)-0210)的制备方法。

贮存 避光贮存。

参 考 文 献

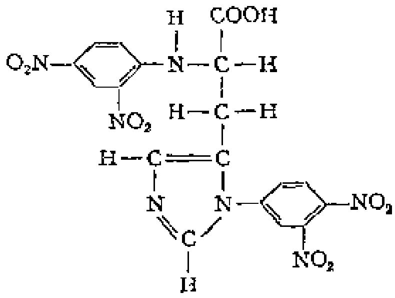
〔1〕 潘家秀等编著：《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，92页，1962年。

N$^{\alpha}$,*N*^{im}-2,4-二硝基苯基-L-组氨酸 Ⅱ-1(2)-0218

N$^{\alpha}$,*N*^{im}-Di(-2,4-dinitrophenyl)-L-histidine

别名 diDNP-His

结构式



分子式 $C_{18}H_{13}N_7O_{10}$ **分子量** 487.23

理化性质 可从丙酮/水中得到结晶或从8mol/L盐酸和氢氧化氨中结晶。溶于丙酮、甲醇；不溶于石油醚、水。

理化参数 熔点250～252℃（分解）。$[\alpha]_D^{24}$ $-22°$($C=0.2-1$，1mol/L氢氧化钠)。ε_{360} 1.87×10^4(1%碳酸氢钠中)；2.15×10^4(1mol/L氢氧化钠中)。

制备方法[1] 按L-组氨酸的量与2.1倍的二硝基氟苯（FDNB）作用，作用步骤同DNP-Ala(Ⅱ-1(2)-0210）的制备，所得的粗制品重结晶时，可溶于50mL8mol/L盐酸中，加入氢氧化氨中和，即有浅黄色沉淀析出，过滤后用清水洗净氯化铵。

贮存 避光保存。

参 考 文 献

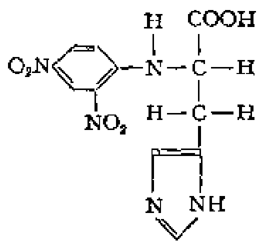
〔1〕 潘家秀等编著:《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，92页，1962年。

N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-组氨酸 Ⅱ-1(2)-0219

N^{α}-2,4-Dinitrophenyl-L-histidine

别名 DNP-His

结构式



分子式 $C_{12}H_{11}N_5O_6$ **分子量** 321.25

理化性质 可从水中得黄色结晶。溶于水、丙酮；不溶于石油醚。

理化参数 熔点275℃（分解）。$[\alpha]_D^{21}$ $-25.5°$($C=0.2\sim1$，1mol/L氢氧化钠)。

贮存 避光贮存。

备注 N^{Im}-DNP-his 熔点280℃(分解)。

参 考 文 献

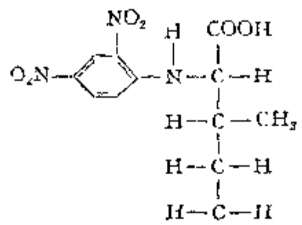
〔1〕 潘家秀:《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，92页，1962年。

N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-异白氨酸　　Ⅱ-1(2)-0220

N^{α}-2,4-Dinitrophenyl-L-isoleucine

别名　DNP-Ile；N-2,4-二硝基苯基-L-异亮氨酸

结构式



分子式　$C_{12}H_{15}N_3O_6$　　**分子量**　297.27

理化性质　可从乙醚/石油醚中得到黄色结晶。溶于乙醚、丙酮和水；不溶于石油醚。

理化参数　熔点113～114℃。$[\alpha]_D^{24}$ +84.8°(C=0.2～1，1mol/L氢氧化钠中)；-35°(C=0.2～1，冰乙酸中)。ε_{360}nm1.78×10^4(1mol/L氢氧化钠中)。

制备方法[1]　0.2g的异亮氨酸和0.4g的碳酸氢钠溶于5mL水中，而后加入10mL含有0.4g二硝基氟苯（FDNB)的乙醇溶液，室温振荡2小时，减压除去乙醇，用乙醚抽提除去未反应的二硝基氟苯，水层盐酸酸化得油状物，将油状物以少量冰水洗去过量盐酸，而后溶于适量丙酮，以无水硫酸钠干燥过夜，次日过滤除去硫酸钠，加入等体积的无水苯再慢慢滴入过量石油醚，即有结晶析出，待固体干燥后，用乙醚溶解，加入石油醚重结晶。

贮存　避光贮存。

参　考　文　献

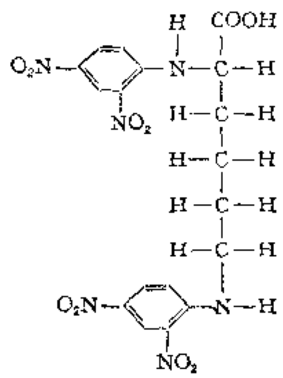
〔1〕　潘家秀等编著：《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，92页，1962年。

N^{α},N^{ε}-二-2,4-二硝基苯基-L-赖氨酸　　Ⅱ-1(2)-0221

N^{α},N^{ε}-Di(2,4-dinitrophenyl)-L-lysine

别名　diDNP-Lys

结构式



分子式　$C_{18}H_{18}N_6O_{10}$　　**分子量**　478.38

理化性质　可从乙醚/石油醚溶液中得到黄色结晶。溶于乙醚、丙酮；不溶于石油醚。

理化参数 熔点146℃。$[\alpha]_D^{24}$ $-26.6°$($C=0.2-1$，冰乙酸中)。ε_{360} 2.64×10^4(1%碳酸氢钠的溶液中)。ε_{360} 2.86×10^4(1mol/L氢氧化钠的溶液中)。

制备方法 可参阅DNP-ILen(Ⅱ-1(2)-0220)的制备方法；仅在反应后，将酸化所得的沉淀用甲酸溶解，使结晶析出，再在甲醇/水溶液中重结晶。

贮存 避光干燥贮存。

参 考 文 献

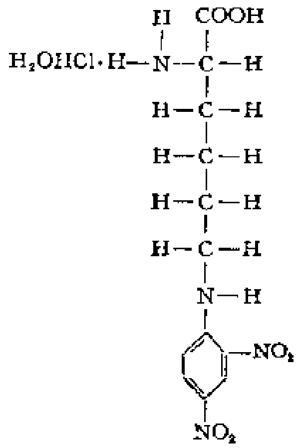
〔1〕 潘家秀等编著：《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，92页，1962年。

N^ε-2,4-二硝基苯基-L-赖氨酸 Ⅱ-1(2)-0222

N^ε-2,4-Dinitrophenyl-L-lysine

别名 DNP-Lys

结构式



分子式 $C_{12}H_{15}N_4O_6\cdot HCl\cdot H_2O$ **分子量** 365.76

理化性质 可从20%盐酸中得黄色结晶。其为含有1分子盐酸和1分子水的晶体。溶于丙酮；不溶于石油醚。

理化参数 熔点186℃。ε_{365nm} 1.50×10^4。(1mol/L氢氧化钠中)。

制备方法 用0.5g L-赖氨酸溶于10mL水中，加热煮沸溶液后，缓缓加入1g的碳酸铜。过滤除去过量的碳酸铜。溶液再加入过量的碳酸氢钠及1.5g的二硝基氟苯(FDNB)溶于20mL乙醇的溶液，室温振摇2小时，把黄绿色沉淀滤出，用水，乙醇和乙醚依次洗涤，再将沉淀悬浮于5mL水中，以1mol/L盐酸溶液滴加入，到溶液澄清为止，将此溶液在冰水中冷却，通入硫化氢2分钟，再加入少量活性碳脱色，过滤，这时铜离子已完全除去。将溶液迅速真空干燥，即可得黄色结晶。将结晶物于20%盐酸中重结晶后可得0.45g的产品。

备注 N-双DNPLYS可从N^ε-DNPLYS与二硝基氟苯作用，而后在乙酸：盐酸(1:1)的溶液中煮沸三天，溶液蒸发到干，溶解后过滤，除去不溶物，以吡啶中和，即为N^α-DNPLYS。熔点260℃(分解)。

贮存 避光干燥贮存。

参 考 文 献

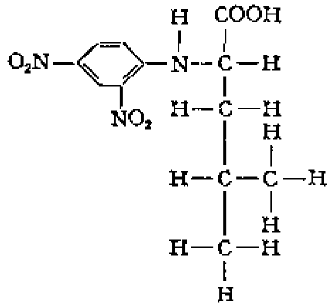
〔1〕 潘家秀等编著：《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，92页，1962年。

N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-白氨酸 Ⅱ-1(2)-0223

N^{α}-2,4-Dinitrophenyl-L-leucine

别名 DNP-Leu；N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-亮氨酸

结构式



分子式 $C_{12}H_{15}N_3O_6$ **分子量** 297.27

理化性质 L-型可从乙醚/石油醚中或乙酸/水溶液中得到黄色结晶。溶于乙醚、丙酮；微溶于水；不溶于石油醚。

理化参数 熔点 94～95 ℃ 或 101 ℃。$[\alpha]_D^{24}$ +56.5°(C=0.2～1，1mol/L 氢氧化钠中)；$[\alpha]_D^{24}$ −45.4°(C=0.2～1，1%碳酸氢钠)。ε_{360}nm1.46×10^4(1%碳酸氢钠)；1.88×10^4(1mol/L氢氧化钠)。

制备方法 参阅DNP-ILe(Ⅱ-1(2)-0220)的制备。

贮存 避光干燥贮存。

备注 DL-型可在丙酮/石油醚或乙酸/水中得到结晶。其熔点为203℃,132℃或126℃。

参 考 文 献

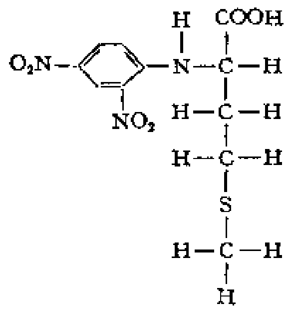
〔1〕 潘家秀等编著:《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，92页，1962年。

N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-甲硫氨酸 Ⅱ-1(2)-0224

N^{α}-2,4-Dinitrophenyl-L-methionine

别名 DNP-Met

结构式



分子式 $C_{11}H_{13}N_3O_7S$ **分子量** 331.31

理化性质 DL-型可从乙醚/石油醚或甲醇/水溶液中得到黄色结晶。溶于甲醇、乙醚和丙酮；不溶于石油醚。

理化参数 熔点117℃或120～121℃。ε_{360nm} 1.47×10^4(1%碳酸氢钠)；ε_{360}1.55(1mol/L氢氧化钠)。

制备方法 参阅DNP-Ala(Ⅱ-1(2)-0210)的制法。

贮存 避光贮存。

参 考 文 献

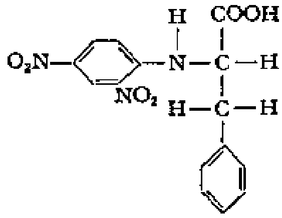
〔1〕 潘家秀等编著:《蛋白质化学研究技术》,科学出版社,94页,1962年。

N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-苯丙氨酸 Ⅱ-1(2)-0225

N^{α}-2,4-Dinitrophenyl-L-phenylalanine

别名 DNP-Phe

结构式



分子式 $C_{15}H_{13}N_3O_6$ **分子量** 331.29

理化性质 L-型可从甲醇/水溶液或乙醚/石油醚溶液中得到黄色结晶。溶于丙酮、乙醚和乙醇，不溶于石油醚和水。

理化参数 熔点189℃或185～187℃。$[\alpha]_D^{24}$ −93.6°(C=0.2, 1mol/L氢氧化钠溶液)；$[\alpha]_D^{24}$ −109.9°(C=0.2, 1%碳酸氢钠溶液)。ε_{360} 2.0×10^4(1mol/L氢氧化钠溶液)；1.9×10^4(1%碳酸氢钠溶液)。

制备方法[1] 参阅DNP-Ala(Ⅱ-1(2)-0210)的制备方法。

贮存 避光保存。

备注 DL-型可从丙酮/石油醚溶液或乙酸/水溶液中得到结晶，其熔点为204～206℃或211～212℃。ε_{360} 1.72×10^4(1mol氢氧化钠溶液)。

参 考 文 献

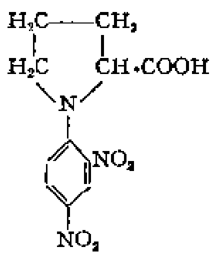
〔1〕 潘家秀等编著:《蛋白质化学研究技术》,科学出版社,94页,1962年。

N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-脯氨酸 Ⅱ-1(2)-0226

N^{α}-2,4-Dinitrophenyl-L-proline

别名 DNP-Pro

结构式



分子式 $C_{11}H_{11}N_3O_6$ **分子量** 281.23

理化性质 L-型可从乙醚/石油醚溶液或酸/水溶液中得黄色结晶。溶于丙酮、乙醚，不溶于石油醚。

理化参数 熔点137～138℃；138～139℃。$[\alpha]_D^{21}$ −772.3°(C=0.1 1mol/L氢氧化钠中)；$[\alpha]_D^{24}$ −703.3°(C=0.1于1%碳酸氢钠溶液中)。ε_{360}1.91×10^4（于1%碳酸氢钠溶液中）；1.92×10^4(于1mol/L氢氧化钠溶液中)。

制备方法 可参阅DNP-Ala(Ⅱ-1(2)-210）的制备方法。

贮存 避光贮存。

备注 DL-型可从乙醚/石油醚溶液中得到黄色结晶。熔点 181℃。ε_{360}1.87×10^4(于1mol氢氧化钠溶液中)。

参 考 文 献

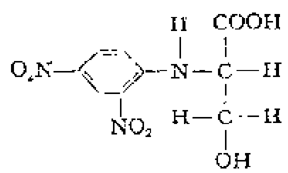
〔1〕 潘家秀等编著：《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，94页，1962年。

N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-丝氨酸 Ⅱ-1(2)-0227

N^{α}-2,4-Dinitropheyl-L-serine

别名 DNP-Ser

结构式



分子式 $C_9H_9N_3O_7$ **分子量** 271.19

理化性质 L-型可从甲醇/水溶液中得到黄色结晶。溶于丙酮、甲醇；不溶于石油醚。

理化参数 熔点176～177℃。 $[\alpha]_D^{24}$ +125.7°(C=0.2/mol/L氢氧化钠)；$[\alpha]_D^{24}$ −24°(C=0.2～1，冰乙酸中)。ε_{360}1.28×10^4(1%碳酸氢钠溶液)。1.73×10^4(1mol/L氢氧化钠溶液)。

制备方法[1] 参阅DNP-Ala(Ⅱ-1(2)-0210）的制备方法。

贮存 避光贮存。

备注 DL-型可从甲醇/水溶液或丙酮/石油醚溶液中得到黄色结晶。熔点186～188℃(分解)或199～200℃。ε_{360}1.74×10^4(1mol/L氢氧化钠溶液中)。

参 考 文 献

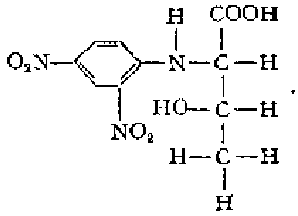
〔1〕 潘家秀等编著：《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，94页，1962年。

N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-苏氨酸 Ⅱ-1(2)-0228

N^{α}-2,3-Dinitrophenyl-L-threonine

别名 DNP-Thr

结构式



分子式 $C_{10}H_{11}N_3O_7$ **分子量** 285.22

理化性质 L-型可从乙醚/石油醚溶液中得到黄色结晶。溶于乙醚、丙酮；不溶于石油醚。

理化参数 熔点145℃。$[\alpha]_D^{24}$ +106.90 (C=0.2～1，1 mol/L 氢氧化钠溶液)，-49.4° (C=0.2-1，冰乙酸中)。

制备方法[1] 参阅DNP-Ala(Ⅱ-1(2)-0210) 的制备方法。

贮存 避光贮存。

备注 DL-型可从甲醇/水溶液或丙酮/石油醚溶液或乙醚/石油醚溶液中得到黄色结晶。其熔点为152℃，178℃或177～178℃。

参 考 文 献

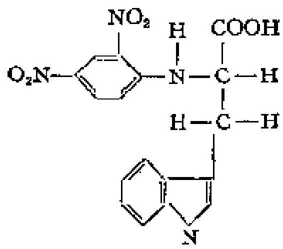
〔1〕 潘家秀等编著：《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，94页，1962年。

N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-色氨酸 Ⅱ-1(2)-0229

N^{α}-2,4-Dinitrophenyl-L-tryptophane

别名 DNP-Trp

结构式



分子式 $C_{17}H_{14}N_4O_6$ **分子量** 370.32

理化性质 可从甲醇/水溶液或丙酮/乙醚溶液中得到黄色结晶。溶于甲醇、丙酮；不溶于石油醚和乙醚。

理化参数 熔点175℃或196～198℃。$[\alpha]_D^{24}$ -348.6(C=0.1，1mol/L氢氧化钠)；$[\alpha]_D^{24}$ -181.5°(C=0.1，冰乙酸)。ε_{360}1.68×10^4(1mol氢氧化钠)。

制备方法 参阅DNP-Ala(Ⅱ-1(2)-0210) 的制备方法。

贮存 避光保存。

备注 DL-型的熔点为215℃(分解)。

参 考 文 献

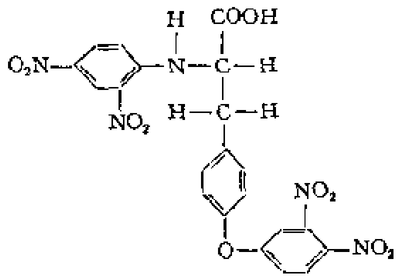
〔1〕 潘家秀等编著：《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，94页，1962年。

N^{α},O-二-2,4-二硝基苯基-L-酪氨酸 Ⅱ-1(2)-0230

N^{α},O-Di(2,4-dinitrophenyl)-L-tyrsine

别名 DNP-Tyr

结构式



分子式 $C_{21}H_{15}N_5O_{11}$ **分子量** 513.38

理化性质 可从丙酮乙醚中得到黄色结晶。溶于丙酮，不溶于石油醚。

理化参数 熔点92～98℃（分解）或178～182℃（分解）。$[\alpha]_D^{24}$ －11.7°(C＝1，冰乙酸)。ε_{360}1.69×10^4(1mol/L氢氧化钠)。

制备方法[1] 由于酪氨酸的苯环上的羟基能与二硝基氟苯作用，故在参阅DNP-Ala(Ⅱ-1(2)-0210)时，将二硝基氟苯再倍量即可。

贮存 避光贮存。

备注 DL-型可从甲醇/水溶液中或乙醇中得到结晶。其熔点84℃或191～193℃。

O-2,4-二硝基苯基-L-酪氨酸，可从水中结晶，其晶体中含有1分子结晶水，熔点202℃(分解)。ε_{360}2.9×10^4(1mol盐酸)。

参 考 文 献

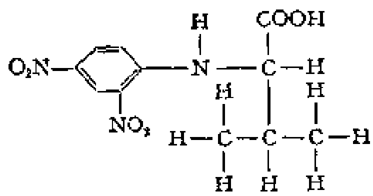
〔1〕 潘家秀等编著：《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，94页，1962年。

N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-缬氨酸 Ⅱ-1(2)-0231

N^{α}-2,4-Dinitrophenyl-L-valine

别名 DNP-Val

结构式



分子式 $C_{11}H_{13}N_3O_6$ **分子量** 283.24

理化性质 从乙醇/石油醚溶液中或甲醇溶液中得到黄色结晶。溶于甲醇、乙醇、丙酮，不溶于石油醚。

理化参数 熔点132℃或130.5℃。$[\alpha]_D^{24}$＋109°(C＝0.1 1mol)氢氧化钠)或$[\alpha]_D^{24}$ －27.9°(C＝1，冰乙酸)。ε_{360}1.50×10^4(1%碳酸氢钠)；1.94×10^4(1mol/L氢氧化钠)。

制备方法[1] 参阅DNP-Ala(Ⅱ-1(2)-0210)的制备方法。

贮存 避光保存。

备注 DL-型可从乙醚/石油醚溶液中或丙酮/石油醚溶液中得到黄色结晶。熔点185℃或182～183℃。

参 考 文 献

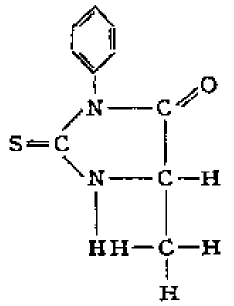
〔1〕 潘家秀等编著:《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，94页，1962年。

苯乙内酰硫脲-L-丙氨酸　　Ⅱ-1(2)-0232

Phenylthiohydantoin-L-alanine

别名 PTH-Ala。

结构式

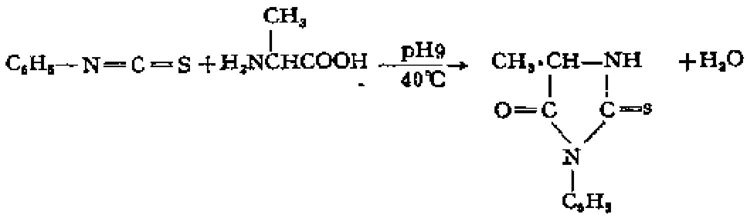


分子式 $C_{10}H_{10}N_2OS$　　**分子量** 206.27

理化性质 可从乙酸/水溶液中得结晶。溶于乙醇，不溶于苯和水。

理化参数 熔点185℃。光谱吸收高峰λ268.5nm。ε1.61×10⁴。

制备方法[1]



26mg丙氨酸和25mg碳酸钠混和，溶于约4mL的50%二氧六环水溶液中，然后，加入0.1mL的异硫氰酸苯酯，于40℃搅拌作用2小时，作用完毕后，以苯抽尽过剩的异硫氰酸苯酯，再以空气吹尽苯，以浓盐酸酸化溶液到盐酸浓度约为1mol/L。然后，再于40℃作用2～4小时，作用完毕后放置冷却，产品即可自行析出结晶，再用乙酸/水溶液重结晶1次。

贮存 0℃贮存。

备注 产品纯度可用纸层析或薄层层析的方法鉴定，可不经显色直接在低压水银灯下观察层析斑点的位层，而后将此斑点取出，用4mL乙醇洗脱15分钟，在λ268nm下测定其光密度，根据摩尔消光系数可计算出其含量。

参 考 文 献

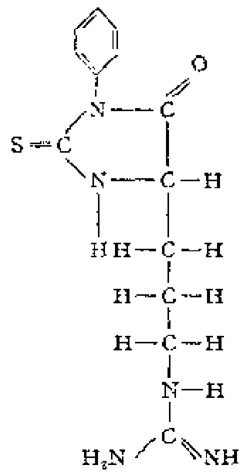
〔1〕 潘家秀等编著:《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，113页，1962年。

苯乙内酰硫脲-L-精氨酸 Ⅱ-1(2)-0233

Phenylthiohydantoin-L-arginine

别名 PTH-Arg

结构式



分子式 $C_{12}H_{17}N_5OS$ **分子量** 291.38

理化性质 可从水溶液中得到结晶。溶于乙醇、乙酸；不溶于水和苯。

理化参数 熔点189℃。光谱吸收高峰λ265nm ε1.46×10⁴。

制备方法[1] 63mg精氨酸单盐酸盐和50mg碳酸钠混和，溶于约4mL的50%二氧六环水溶液中，加入0.1mL的异硫氰酸苯酯，40℃保温搅拌反应2小时，反应完毕后，以苯抽尽过剩的异硫氰酸苯酯，再以空气吹尽苯。以浓盐酸酸化溶液到反应液的盐酸浓度约为1mol/L，然后再于40℃反应2～4小时，作用完毕后放置冷却。自行析出产品结晶，过滤后的结晶用水加热溶解，冷却后得结晶，即为产品。

贮存 0℃贮存。

参 考 文 献

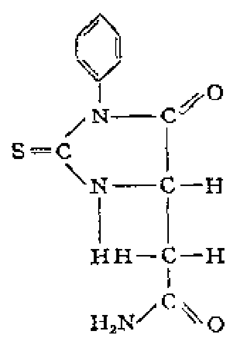
〔1〕 潘家秀等编著：《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，113页，1962年。

苯乙内酰硫脲-L-天冬酰胺 Ⅱ-1(2)-0234

Phenylthiohydantoin-L-asparagine

别名 PTH-Asn

结构式



分子式 $C_{11}H_{11}N_2O_2S$ **分子量** 249.28

理化性质 可从乙醇/水溶液中得到结晶。溶于乙醇；不溶于苯和水。

理化参数 熔点234℃。光谱吸收高峰λ269.5nm ε1.80×10⁴。

制备方法[1] 40 mg天冬酰胺和25 mg碳酸钠混和后溶于50%二氧六环水溶液中，再参阅PTH-Ala Ⅱ-1(2)-0232的制备方法进行。

贮存 0℃贮存。

参 考 文 献

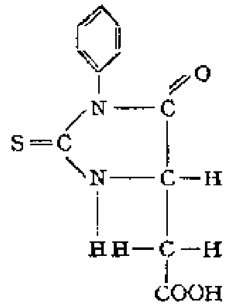
〔1〕 潘家秀等编著：《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，113页，1962年。

苯乙内酰硫脲-L-天冬氨酸 Ⅱ-1(2)-0235

Phenylthiohydantoin-L-aspartic acid

别名 PTH-Asp

结构式



分子式 $C_{11}H_{10}N_2O_3S$ **分子量** 250.28

理化性质 可从乙醇/水溶液中得到结晶。溶于乙醇，不溶于苯。

理化参数 熔点229℃。光谱吸收高峰λ268.5nm。ε1.61×10⁴。

制备方法[1] 用40mgAsp制备 参阅PTH-Asn Ⅱ-1(2)-0234的制备方法。

贮存 0℃贮存。

参 考 文 献

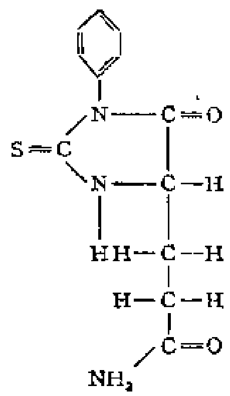
〔1〕 潘家秀等编著：《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，113页，1962年。

苯乙内酰硫脲-L-谷氨酰胺 Ⅱ-1(2)-0236

Phenylthiohydantoin-L-glutamine

别名 PTH-Glu

结构式



分子式 $C_{12}H_{14}N_3O_2S$ **分子量** 264.33

理化性质 可从乙醇/水溶液中得到结晶。溶于乙醇；不溶于苯。

理化参数 熔点193℃（分解）。ε_{265}nm1.40×10^4。

制备方法[1] 44mg谷氨酰胺和25mg碳酸钠混和后与0.1mL异硫氰酸苯酯作用。参阅PTH-Asn（Ⅱ-1(2)-0234）的制备方法。

贮存 0℃贮存。

参 考 文 献

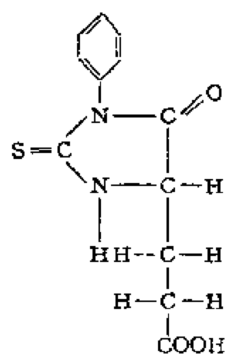
〔1〕 潘家秀等编著：《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，113页，1962年。

苯乙内酰硫脲-L-谷氨酸 Ⅱ-1(2)-0237

Phenylthiohydantoin-L-glutamic acid

别名 PTH-Glu

结构式



分子式 $C_{12}H_{13}N_2O_3S$ **分子量** 265.31

理化性质 可从乙醇/水溶液中得到结晶。溶于乙醇、乙酸；不溶于苯。

理化参数 熔点 166～167℃。光谱吸收高峰λ269nm。ε1.60×10^4。

制备方法[1] 用44mg谷氨酸制备，请参阅PTH-Asn（Ⅱ-1(2)-0234)的操作。

贮存 0℃贮存。

参 考 文 献

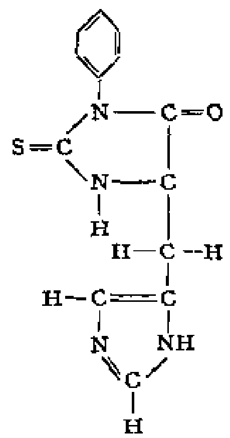
〔1〕 潘家秀等编著：《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，113页，1962。

苯乙内酰硫脲-L-组氨酸 Ⅱ-1(2)-0238

Phenylthiohydantoin-L-histidine

别名 PTH-His

结构式



分子式 $C_{13}H_{11}N_4OS$ **分子量** 271.32

理化性质 从乙醇中可得结晶。溶于二甲基甲酰胺，不溶于苯。

理化参数 熔点 200～206℃。光谱吸收高峰λ265.5 ε1.51×10⁴。

制备方法 58mg组氨酸盐酸盐和50mg碳酸钠溶于水约4mL 50%二氧六环水溶液中反应。操作请参阅PTH-Asn（Ⅱ-1(2)-0234）的制备方法。

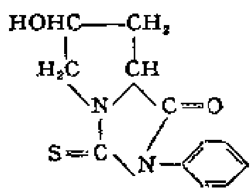
贮存 0℃贮存。

苯乙内酰硫脲-L-羟脯氨酸 Ⅱ-1(2)-0239

Phenylthiohydantoin-L-hydroxyproline

别名 PTH-OHPro

结构式



分子式 $C_{12}H_{13}N_2O_2S$ **分子量** 249.31

理化性质 可从水溶液中得到结晶。

理化参数 熔点 171℃。

制备方法 39mg羟脯氨酸和25mg碳酸钠混和后，按照PTH-Ala Ⅱ-1(2)-0232的制备方法制备。

贮存 0℃贮存。

参考文献

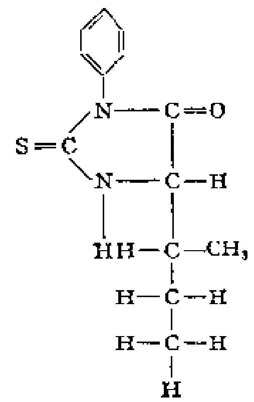
〔1〕 潘家秀等编著：《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，113页，1962年。

苯乙内酰硫脲-L-异白氨酸 Ⅲ-1(2)-0240

Phenylthiohydantoin-L-isoleucine

别名 PTH-Ile；苯己内酰硫脲-L-异亮氨酸

结构式



分子式 $C_{13}H_{16}N_2OS$ **分子量** 248.35

理化性质 从乙醇溶液中可得到结晶。溶于乙醇；不溶于苯。

理化参数 熔点 176～179℃。光谱吸收高峰λ269.5nm。ε1.56×10⁴。

制备方法[1] 用39mg异白氨酸操作，参阅PTH-Ala Ⅲ-1(2)-0232的制备。

贮存 0℃贮存。

参 考 文 献

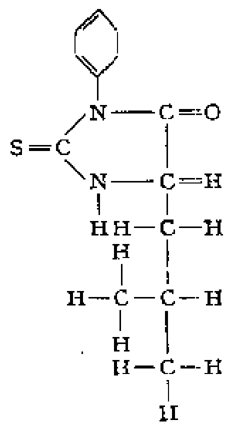
〔1〕 潘家秀等编著：《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，113页，1962年。

苯乙内酰硫脲-L-白氨酸 Ⅲ-1(2)-0241

Phenylthiohydantoin-L-leucine

别名 PTH-Leu；苯乙内酰硫脲-L-亮氨酸

结构式



分子式 $C_{13}H_{16}N_2OS$ **分子量** 248.35

理化性质 可从乙醇溶液中得到结晶。

理化参数 熔点 176～179℃。光谱吸收高峰λ269nm。ε1.53×10⁴。

制备方法[1] 用39mg白氨酸操作请参阅PTH-Ala(Ⅱ-1(2)-0232)的制备。

贮存 0℃贮存。

参 考 文 献

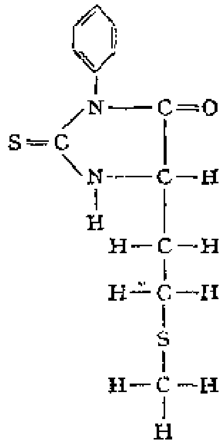
〔1〕 潘家秀等编著：《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，113页，1962年。

苯乙内酰硫脲-L-甲硫氨酸 Ⅱ-1(2)-0242

Phenylthiohydantoin-L-methionine

别名 PTH-Met

结构式



分子式 $C_{12}H_{14}N_2OS_2$ **分子量** 266.39

理化性质 可从乙酸/水溶液中得到结晶。溶于乙醇、乙酸；不溶于苯。

理化参数 熔点 132℃。光谱吸收高峰λ270.5nm。ε1.79×10⁴。

制备方法[1] 用45mg甲硫氨酸进行反应操作可参阅 PTH-Ala Ⅱ-1(2)-232的制备方法。

贮存 0℃贮存。

参 考 文 献

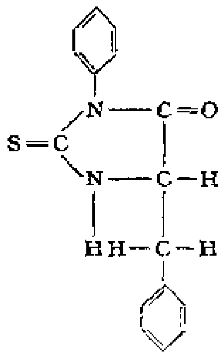
〔1〕 潘家秀等编著:《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，113页，1962年。

苯乙内酰硫脲-L-苯丙氨酸 Ⅱ-1(2)-0243

Phenylthiohydantoin-L-Phenylalanine

别名 PTH-Phe

结构式



分子式　$C_{16}H_{14}N_2OS$　　**分子量**　282.33

理化性质　可从乙酸/水溶液中得到结晶。溶于乙醇、乙酸；不溶于苯。

理化参数　熔点　187℃。光谱吸收高峰λ270.5nm。ε1.50×10⁴。

制备方法　用50mg苯丙氨酸进行反应操作，参阅PTH-Ala Ⅱ-1(2)-0232的制备方法。

贮存　0℃贮存。

参 考 文 献

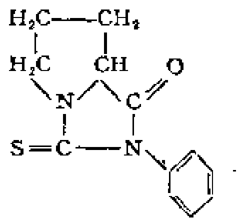
〔1〕 潘家秀等编著:《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，113页，1962年。

苯乙内酰硫脲-L-脯氨酸　　Ⅱ-1(2)-0244

Phenylthiohydantoin-L-proline

别名　PTH-Pro

结构式



分子式　$C_{12}H_{12}N_2OS$　　**分子量**　232.31

理化性质　可从乙酸/水溶液中得到结晶。

理化参数　熔点　179℃。光谱吸收高峰λ271.5。ε1.60×10⁴。

制备方法[1]　用35mg脯氨酸进行反应，参阅PTH-Ala Ⅱ-1(2)-0232的制备方法。

贮存　0℃贮存。

参 考 文 献

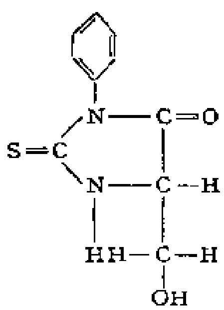
〔1〕 潘家秀等编著:《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，113页，1962年。

苯乙内酰硫脲-L-丝氨酸　　Ⅱ-1(2)-0245

Phenylthiohydantoin-L-serine

别名　PTH-Ser

结构式



分子式　$C_{10}H_{10}N_2O_2S$　　**分子量**　222.27

理化性质 可从乙醇溶液中得到结晶。

理化参数 熔点 176～178℃。光谱吸收高峰λ269nm。ε1.55×10^4。

制备方法 用32mg丝氨酸反应操作，参阅PTH-Ala Ⅱ-1(2)-0232的制备方法。

贮存 0℃贮存。

参 考 文 献

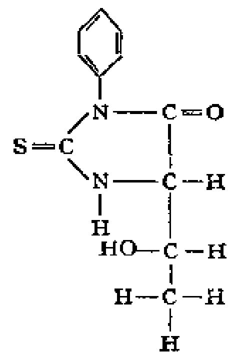
〔1〕 潘家秀等编著:《蛋白质化学研究技术》，科学出版社，113页，1962年。

苯乙内酰硫脲-L-苏氨酸　Ⅱ-1(2)-0246

Phenylthiohydantoin-L-threonine

别名 PTH-Thr

结构式



分子式 $C_{11}H_{12}N_2OS$　**分子量** 220.30

理化性质 可从乙醇溶液中得到结晶。

理化参数 熔点194℃。光谱吸收高峰λ269.5nm。ε1.64×10^4。

制备方法 用36mg苏氨酸反应操作，参阅PTH-Ala Ⅱ-1(2)-0232的制备方法。

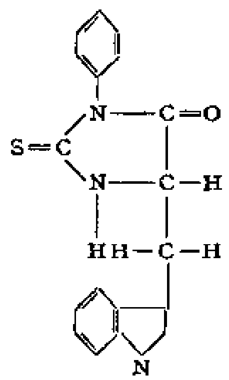
贮存 0℃贮存。

苯乙内酰硫脲-L-色氨酸　Ⅱ-1(2)-0247

Phenylthiohydantoin-L-tryptophan

别名 PTH-Trp

结构式



分子式 $C_{18}H_{15}N_3OS$　**分子量** 321.40

理化性质 可从乙酸/水溶液中得到结晶。

理化参数 熔点 177℃。光谱吸收高峰λ269.5nm。ε1.73×10⁴。

制备方法 用61mg色氨酸反应操作，参阅PTH-Ala Ⅱ-1(2)-0232的制 备方法。

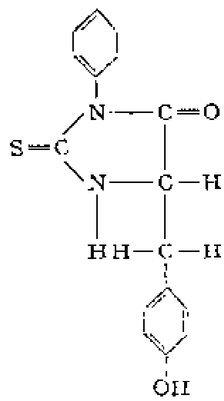
贮存 0℃贮存。

苯乙内酰硫脲-L-酪氨酸 Ⅱ-1(2)-0248

Phenylthiohydantoin-L-tyrosine

别名 PTH-Tyr

结构式



分子式 $C_{16}H_{14}N_2O_2S$ **分子量** 298.37

理化性质 可从乙酸/水溶液中得到结晶。

理化参数 熔点 216℃。光谱吸收高峰λ271nm。ε1.64×10⁴。

制备方法 用54mg酪氨酸进行反应，操作参阅PTH-Ala（Ⅱ-1(2)-0232)。

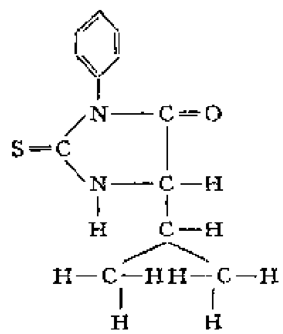
贮存 0℃贮存。

苯乙内酰硫脲-L-缬氨酸 Ⅱ-1(2)-0249

Phenylthiohydantoin-L-valine

别名 PTH-Val

结构式



分子式 $C_{12}H_{14}N_2OS$ **分子量** 234.32

理化性质 可从乙酸/水溶液中得到结晶。

理化参数 熔点206~208℃。光谱吸收高峰λ270nm。ε1.62×10⁴。

制备方法 用35mg缬氨酸进行反应，操作参阅PTH-Ala Ⅱ-1(2)-0232的制备方法。

贮存 0℃贮存。

第二章　酶及有关化合物

第一节　酶

乙酰胆碱酯酶　Ⅱ-2(1)-0001

Acetyl cholinesterase

别名　Acetylcholine acetylhydrolase；cholinesterase,acetyl；True cholinesterase

EC　3.1.1.7

分子量　260 000，4个亚基（64000）

酶反应及测定

$$(CH_3)_3N^+CH_2CH_2OOCCH_3 + H_2O \xrightarrow{酶} (CH_3)_3N^+CH_2CH_2OH + CH_3COOH$$

或　乙酰硫代胆碱 $\xrightarrow{酶}$ 硫代胆碱＋乙酸盐

硫代胆碱＋5,5′-二巯基-2,2′-二硝基苯甲酸(DTNB)⟶黄色

用上述方法测定快速，灵敏（10μL血样已足）。

单位定义　25℃,pH7.0,1分钟水解1μmol乙酰(或乙酰硫代)胆碱的酶量为1单位,用U表示。

理化性质　抑制剂二异丙基氟磷酸DFP在6mol/L胍和巯基乙醇作用下，乙酰胆碱酯酶解离成四个亚基。它是由二条α-和β-链组成的二聚体杂化物结构．

理化参数　$A^{1\%}_{280nm}$16.1（干重测）。

PI　5.0；等离子点pH5.35。

制备方法[1]

1．抽提　新鲜电组织从*Electrophorus electricus*的主要器官中切成片，以甲苯覆盖并在2℃保存。这是为了除去粘蛋白(它以相当的量存在于此组织中,在提纯时是干扰因素)。在至少8周期间，定期用纱布压挤组织以除去甲苯和组织渗出液，并且重新悬浮于新鲜甲苯中。

以下操作在2～4℃进行。甲苯处理的电组织以1.0kg一批在2.5L 5%(w/v)硫酸铵溶液中搅匀4分钟。匀浆悬浮液离心（10000×g，1小时），上清液倾泌通过纱布。沉淀再次丄硫酸铵（原来1kg用0.8L）中搅匀，再次离心。上清液与原来抽提液合并，弃去残渣。

2．硫酸铵沉淀　合并抽提液，加入等体积0.01mol/L磷酸钠（pH7.0），含足够量的硫酸铵使其最后浓度达15%(w/v)。加入标准硅藻土，悬浮液过滤。清的滤液加固体硫酸铵使溶液达35%(w/v)。加入助滤剂，悬浮液过滤得到清液。滤饼按每公斤原来组织用400mL0.01mol/L磷酸钠，pH7.0抽提，滤去硅藻土，清液对0.01mol/L磷酸钠（pH7.0）透析直至不含$SO_4^=$。

3．苄基DEAE纤维素层析、透析　清液上苄基DEAE-纤维素柱，柱预先用0.01mol/L磷酸钠(pH7.0)平衡，一床体积约200mL/kg原来组织。用线性梯度0～1mol/L氯化钠溶于0.01mol/L磷酸钠(pH7.0)洗脱。梯度的总体积为100mL/g组织。含高活力部分合并,对去离子水透析直至不含盐；然后冷冻干燥。

4．Sephadex G-200层析　蛋白质重新溶解于0.01 mol/L磷酸钠溶液中，(pH 7.0)

浓度约50 mg/mL，离心（45000 g，30分钟），溶液上Sephadex G-200柱，柱预先用同样缓冲液平衡，所用床体积同苄基DFAE-纤维素。柱用0.01mol/L磷酸钠，（pH7.0）洗脱。含高活力部分合并，调至0.03mol/L磷酸钠，pH5.9。

5．Cellex P层析　溶液上磷酸纤维素柱，床体积同3柱预先用同样缓冲条件平衡。柱用与样品相同体积的0.03mol/L磷酸钠（pH5.9）洗涤，洗脱用线性梯度0～1mol/L氯化钠溶于0.03mol/L磷酸钠（pH 5.9）进行。梯度的总体积为5mL/1mg蛋白质。

6．DEAE Sephadex层析　从磷酸纤维素收集部分，用0.1mol/L氢氧化钠中和，高活力的管子合并，对0.03mol/L磷酸缓冲液，（pH7）透析，再上DEAE-Sephadex柱，柱预先用同样缓冲液平衡。洗脱用线性梯度0～1.0mol/L氯化钠溶于0.03mol/L磷酸钠(pH7.0）溶液。梯度的总体积约5mL/mg蛋白质上柱量。最高活力部分合并。

7．DEAE纤维素层析　用DEAE-纤维素柱重复6

8．结晶　当纯酶蛋白的浓溶液（0.5～1%）保存于35%硫酸铵溶液，4℃时，2～4天形成结晶。结晶长度约10μm。具体操作如下：饱和硫酸铵缓慢地加到0.5～1%纯酶在0.06mol/L磷酸钾（pH6.85）溶液中，直至微浑浊出现。表示有约35%饱和。离心使清，在2～3个月缓慢浓缩，可以得到长150μm的结晶。最常见的形状是短、厚棱形有规则的六角形横切面。无规则的湿结晶浆集物有衍射最高值，这说明有约300～400Å间距。如用吡啶作为沉淀剂代替硫酸铵，得到长针状结晶。

纯化步骤总结

步骤	比活,U/mg	总活力，U	产率，%
抽提，硫酸铵沉淀	11～20	380 000～400 000	100
苄基DEAE-纤维素	22～50	250 000～300 000	66～75
透析	40～60	220 000～250 000	57～62
Sephadex	85～200	160 000～220 000	42～55
Cellex P	230～350	110 000～150 000	29～37
DEAE-Sephadex	500～600	70 000～100 000	18～25
DEAE-纤维素	720～750	28 000～45 000	8～12

贮存　0～+4℃，可保存半年不失活。

参 考 文 献

〔1〕 Tabor H. and Tabor C. W.: "Methods in Enzymology", Vol. X Ⅷ B., Academic Press, New York and London, 782, 1971.

S-乙酰辅酶A合成酶　Ⅱ-2(1)-0002

S-Acetyl coenzyme A synthetase

别名　乙酸硫激酶　Acetate chiokinase；乙酸：辅酶A连接酶〔产生AMP〕Acetate：CoA ligase〔AMP forming〕

EC　6.2.1.1

分子量　30000

酶反应

$$Ac + ATP + E \rightleftharpoons E(Ac - AMP) + PP \qquad (1)$$

$$E(Ac-AMP)+CoASH \rightleftharpoons AcCoA+5'-AMP+E \qquad (2)$$

单位定义 在37℃，1分钟催化1μmol还原辅酶A的消失的酶量为1单位。

理化性质 白色结晶。最适pH7.8～8.4。

激活剂 对反应（1）有Mn^{2+}，Fe^{2+}，Co^{2+}或Ca^{2+}。单价阳离子需要Rb^+，NH_4^+，$Tris^+$，K^+，Na^+和Li^+。在10～200mmol/L时，Na^+和Li^+有抑制反应，而其他阳离子则最大地激活。

抑制剂 底物在适当高浓度时抑制酶，而2mmol/L焦磷酸产生将近50%的抑制。丁酸α-苯酯，脂肪酸和胆固醇生物合成的抑制剂降低酵母酶活力70～80%。

稳定性 4℃干燥保存；6个月内活力可下降约10%。在重蒸水中溶液（10mg冻干物/mL）4℃ 2周内稳定。

制备方法[1] 所有步骤在4℃进行。每当加入重结晶硫酸铵，用氢氧化铵调至pH8，在盐溶解后溶液再搅拌10分钟。在纯化过程中，蛋白质维持在3mmol/L巯基乙醇-0.5mmol/L乙二胺四乙酸二钠盐溶液中(EDTA)，pH8。当以硫酸铵沉淀分离时，酶重新离心；这样除去过量的液体硫酸铵，它抑制酶活性。透析管使用前在20mmol/L碳酸氢钾-1mmol/LEDTA中煮沸，用蒸馏水冲洗，并干燥。

1．线粒体的分离 冰冷的新鲜牛心在绞肉机内绞成中等浆。1kg肉糜与2.8倍0.13mol/L氯化钾在捣碎机内捣匀（20秒高速和20秒低速)。离心（1200×g，10分钟）除去细胞碎屑和核。线粒体从上清液中通过恒流（40～60mL/min）离心分离而得。5kg心肌5小时得180～300g湿重压紧的线粒体。用0.13mol/L氯化钾稀释至1700mL，短时间搅匀使悬浮。混合物倒入4只塑料瓶内并在-20℃冻结。

2．粗线粒体上清液的制备 次日，线粒体悬浮液置45℃水浴内搅动使快速解冻，用氢氧化铵调节pH至8；混合物再保存于-20℃。再重复在pH8解冻与结冻一次。结冻制剂在此阶段一年内损失很少活力。为了纯化，进行第三次解冻，在4℃离心（20000kg，50分钟)。所得粗线粒体上清液（3～4mg蛋白/mL）应相当清，浑浊制剂比活低。

3．第一次硫酸铵分级 加入固体硫酸铵使溶液的浓度为0.21g/mL。离心(20000×g，15分钟）弃去小量沉淀，上清液用硫酸铵处理（0.235g硫酸铵/mL原来溶液)。悬浮液离心（20000×g，15分钟)，弃去上清液。

4．用氢氧化铝凝胶C_γ分级 上述沉淀溶解于20mmol/L碳酸氢钾中。使蛋白浓度为8mg/mL。典型制备，加入4%酶体积的饱和硫酸铵（pH8.3，4℃)，再加15%酶体积的氢氧化铝凝胶C_γ(15～20mg固体/mL)。凝胶悬浮液在快速搅拌下用氢氧化铵缓慢加入重新调节pH至8；加完后继续搅拌5分钟。立即离心（6000×g，5分钟)，沉淀弃去。加入重结晶的硫酸铵（0.395g/mL上清液)，离心（20000×g，15分钟)。最后沉淀能回收蛋白55～60%。

5．第二次硫酸铵分级 凝胶-硫酸铵沉淀溶于20mmol/L碳酸氢钾，并稀释至8mg蛋白/mL。加入饱和硫酸铵溶液（pH8.3，4℃）使达蛋白浓度为0.64mL/mL。离心除去沉淀后，加入固体硫酸铵（0.17g/mL上清液)。沉淀溶于最小量20mmol/L碳酸氢钾中，并对同一缓冲液透析1小时。

6．第一次Sephadex G-100柱层析 （用Bio-Gel P150代替，酶用氯化镍和乙酰腺苷酸保护可得高产酶活)。透析蛋白稀释至40mg蛋白/mL，并移至SephadexG-100柱（45×2.6cm）上，柱预先用20mmol/L碳酸氢钾平衡。用同样溶液洗脱蛋白，流速0.5mL/min，收集6～8mL/管。大部分酶活力出现在蛋白峰稍后，在红色色素之前以及与之重叠。比活在

1.8倍以上者合并。

7. TEAE-纤维素层析　上述合并部分用20mmol/L碳酸氢钾稀释至蛋白浓度为5mg/mL，并加到TEAE-纤维素柱（36×2.2cm）上，柱预先经20mmol/L碳酸氢钾平衡；流速20mL/h。用线性梯度洗脱。混合瓶内为200mL 20mmol/L碳酸氢钾，蓄液瓶内为200mL 20mmol/L碳酸氢钾-0.3mol/L氯化钾；流速20mL/h。收集5～7mL管。约开始梯度300mL后，酶被洗脱在几管中。它的位置与绿-黄或红色杂质相重迭。比活大于27U/mg者合并，加入固体硫酸铵（0.65g/mL溶液）以沉淀蛋白。离心后沉淀保存于－20℃或溶于最小量20mmol/L碳酸氢钾并对同一溶液透析1小时。

8. 第二次Sephadex G-100柱层析（见6）　透析蛋白（70～120mg）用20mmol/L碳酸氢钾-0.12mol/L氯化钾稀释至蛋白浓度为35mg/mL，并加到新制备的Sephadex G-100柱（22×1.2cm）上，柱预先用20mmol/L碳酸氢钾-0.12mmol/L氯化钾平衡。用同一溶液洗脱，流速0.6mL/min，收集2mL/管。酶的比活达36.7U/mg。加固体硫酸铵（0.65g/mL酶液）。沉淀离心后保存于－20℃，或接下去进行结晶。

9. 结晶　沉淀悬浮于0.50饱和硫酸铵溶液中（pH8.3，4℃），蛋白浓度为10～20mg/mL，搅拌10分钟。不溶的蛋白离心（27000×g，15分钟）除去。上清液保持4℃；4天后出现结晶或无定形的粉笔白色沉淀。如果在放置前加晶种，结晶效果更佳。

稳定性与纯度　经第二次Sephadex（G-100）柱层析后的酶相当不稳定。第7步的沉淀适用于许多工作，保藏于－20℃，第一个月损失10～40%活力。第9步制剂测不出ATP酶、焦磷酸酶、乙酰辅酶A脱酰酶或裂解乙酰腺苷酶活力。

用途　用于测定乙酸盐和ATP。

参考文献

〔1〕 Lowenstein J. M.; "Methods in Enzymology", Vol. XIII, Academic Press, New York and London, 375～381, 1969.

酰基转移酶 I　　　　Ⅱ-2(1)-0003

Acylase I

别名　氨基酰化酶　Aminoacylase；N-酰化氨基酸酰氨基水解酶　N-Acylamino acid amidohydrolase

EC　3.5.1.14

分子量　76500（猪肾）

酶反应

$$R_1{-}CH_2{-}CO{-}NH{-}\underset{\text{酰化-L-氨基酸}}{\overset{R_2}{\overset{|}{CH}}}{-}COOH + H_2O \xrightarrow{\text{酶}} NH_2{-}\underset{\text{L-氨基酸}}{\overset{R_2}{\overset{|}{CH}}}{-}COOH + R_1CH_2COOH$$

其中　R_1＝Cl、H、NH_2；R_2＝氨基酸的侧链

单位定义　25℃，pH7.0，1分钟催化1μmol N-乙酰-L-甲硫氨酸的酶量为1单位。

理化性质　氨基酰化酶立体专一性地水解N-乙酰脂族的L-氨基酸。

专一性　酰化酶Ⅰ对底物化学结构要求为（1）单羧基氨基酸；（2）氨基酸中α-碳原子上的氨基被酰化，酰化基团不同，其水解速度也不一样。一般是三氟乙酰基＞氯乙酰基＞

丙酰基≃乙酰基>甲酰基>苯甲酰基。如果酰化基团为苄氧羰基则酶不水解。不同来源的酰化酶对底物化学结构专一性也不一致：酰化酶Ⅰ水解脂肪族L-氨基酸酰化物速度较快，而从微生物霉菌中制备的酰化酶水解芳香族L-氨基酸酰化物速度较快。

Co^{2+}离子促进酰化酶Ⅰ水解通常水解作用较慢的底物（乙酰-L-精氨酸除外），且浓度以1×10^{-3}mol/L为宜；相反，Co^{2+}离子抑制酰化酶Ⅰ水解通常水解作用较快的底物。

稳定性　纯酶冷冻干燥后长期保存活力不下降；粗酶制剂干粉在5℃稳定，粗酶溶液加入甲苯于冰箱中可作短期（1～2天）保存。酰化酶Ⅰ水溶液在pH7.0，70℃水浴保温60分钟酶活力不变。pH低于5.0，保温初期酶迅速失活。

理化参数　酰化酶Ⅰ最适pH为7.0～7.5。淀粉酶制剂中酰化酶也为7.0～7.5。米曲酰化酶作用，最适pH随所用底物不同而略有变化，但都在pH7～8之间，Co^{2+}离子使其水解某些底物最适pH向酸侧偏移1.0pH单位。

制备方法[1]　1kg新鲜（或冰冻）猪肾，切除内膜，绞碎，加入1.5倍体积冰冷的0.1mol/L(pH7.0)磷酸缓冲液，用捣碎机制成匀浆，离心除去沉淀，清液部分加入硫酸铵至饱和度0.30，离心弃去沉淀，清液加入硫酸铵至饱和度0.45，离心收集沉淀部分，用少量水溶解沉淀，装入透析袋，对水透析除去硫酸铵，将酶液倾入三角瓶中，于60℃水浴中保温15分钟，离心除去沉淀，清液为粗酶液，此粗酶制剂可用于拆分多种酰化-DL-氨基酸，加入少量甲苯，置冰箱中备用。

提纯方法　如需进一步纯化，可在-8℃左右用丙酮分级沉淀，收集40～60%(v/v)部分。或在-2℃用乙醇分级沉淀，收集30～60%(v/v)部分，再经DEAE-纤维素柱层析分离，可得到单一蛋白成分的酰化酶。

纯酶比活为29000μmol乙酰-L-甲硫氨酸/h/mg蛋白氮。酰化酶Ⅰ含氮量为16.0%。

用途　主要用于生产L-氨基酸和D-氨基酸。

参考文献

[1] 张树政："酶制剂工业"，(下册)，科学出版社，697页，1984。

5′-腺苷二磷酸酶　Ⅲ-2(1)-0004

Adenosine-5′-diphosphatase

别名　腺二磷酶 ADPase

酶反应　ATP⟶ADP+P⟶AMP+2P

单位定义　在pH6.5，30℃，1分钟将释放1.0μmol的无机磷的酶量为1单位。

理化性质　酶制剂从ATP分离出二个磷酸。

制备方法[1]　1kg去皮土豆和1L中性的0.01mol/L氰化钾在捣碎机中研磨5分钟，纱布过滤，冷冻离心。在机械搅拌下，每1L溶液加入450g粉末硫酸铵以沉淀酶。沉淀在冰箱内过滤过夜。固体物溶于水中，对流动蒸馏水透析24小时，冷冻离心，上清液用硫酸铵同上述步骤重新沉淀。固体物过滤，溶于水，透析并离心使清。在搅拌下，每100mL清液加入30g细粉末硫酸铵，过滤除去沉淀物。滤液中再加15g硫酸铵，此时酶沉淀。过滤，溶于少量水后在冷中透析，离心使清。

纯化步骤的总结

部分	总体积，mL	总活力，10^{-4}U	比活，U/mg干重	回收率，%
土豆抽提液	2120	1374	57	100
硫酸铵分级 450g/L抽提液	355	1563		114
透析后上清	800	920	1613	67
硫酸铵分级 如同 2.与 3.	155	555	1914	40
硫酸铵分级 30～45g/100ml 溶液并透析		100	66600	7

参考文献

[1] Colowick S. P. and Kaplan N. O.; "Methods in Enzymology", Vol. Ⅱ, Academic Press, 591～593, 1955.

醇脱氢酶 Ⅱ-2(1)-0005

Alcohol dehydrogenase

别名 ADH；Alcohol：NAD^+ oxidoreductase

EC 1.1.1.1

分子量 马肝73000 酵母37000，四聚体141000

酶反应 此酶在烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（NAD）和还原烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)的存在下，相应地催化醇的氧化和醛与酮的还原。

$$RCH_2OH + NAD^+ \rightleftharpoons RCHO + NADH + H^+$$

单位定义 在25℃，pH8.8，1分钟还原1μmol的NAD酶为1单位。

理化性质 马肝和酵母的ADH都能结晶。酵母ADH是四聚体，单体分子量35000。每一亚基有一锌分子和两个巯基的活力中心。

激活剂 有巯基乙醇，二巯基苏糖醇，半胱氨酸，重金属螯合剂。

抑制剂 有重金属，巯基试剂。

稳定性 酶的稀溶液可以用血清白蛋白和/或谷胱甘肽或半胱氨酸使稳定。在pH低于6.0和高于8.5时，此酶增加不稳定。此酶在高纯水中，近中性的高浓度溶液在5℃稳定几天。

理化参数 $A_{280}^{1\%}$ 12.6；pI5.4；最适乙醇氧化pH8.6～9.0，醛还原pH7.0。

蛋白测定 $A_{280} \times 2.2 =$ mg蛋白/mL

制备方法[1] 原料可以采用新鲜马肝，也可以用经过几周冷冻的马肝。

5kg马肝（一只马肝约重5～6kg）经绞肉机绞碎，用10 L蒸馏水在室温抽提3小时，不时搅拌，也可置冷室过夜。过滤或在室温纱布过滤，固体弃去。盛有上清液的容器浸入很热的水浴中，在搅拌下加热至52℃并在52℃保持15分钟，然后在冷水浴中，搅拌下冷至室温。所形成的沉淀用离心除去，弃之。

量浑浊、红棕色上清液的容积，在搅拌下加入固体硫酸铵（349g/L上清液）使达55%饱和度。加入硫酸铵时溶液的pH不能低于6；加入氢氧化钠以维持溶液近pH7。在室温放置20分钟后，混合液离心，蛋白质沉淀弃去。上清液应为红色和清的（如果它是浑浊或非常深色，说明很多应该沉淀的杂质没有被除去。此时宁愿重新制备另一批而不要继续做下去）。

在搅拌下再加硫酸铵（208g/L上清液）使达0.8饱和度，溶液pH保持在6以上。20分钟后，粗制沉淀酶离心（3000rpm）收集，浅草色上清液弃去。沉淀液或悬浮于约250ml 0.01mol/L(pH7)磷酸缓冲液，并在冰库中对大容积的0.01mol/L(pH7)缓冲液透析直至残留的硫酸铵少于2%。约需36～48小时，可换2～3次缓冲液。透析过的溶液测定ADH活力和蛋白含量以计算大致纯度。

透析酶液置三角烧瓶内，在不断振摇下对每1L酶液慢慢加入160mL绝对乙醇和80mL三氯甲烷的混合液。混合液再振摇10分钟，放置30～60分钟，然后离心除去变性的血红蛋白沉淀。上清液在室温或以下迅速减压浓缩至200～300mL并在冷室对0.01mol/L(pH7)磷酸缓冲液透析过夜。如果需要，透析液离心使清。纯度再测定，一般在4～10%。

结晶　纯化的其余部分当温度刚在凝结点之上以乙醇进行。用以分级的乙醇稀释至90%(v/v)并在用前冷至-15℃。一定量的0.02mol/L(pH7)磷酸缓冲液冷至0℃应准备好。最后的纯化和结晶是基于下列事实：此酶或多或少不溶于含5～15%乙醇的0.01～0.02mol/L缓冲液(pH7)，而杂质则留在溶液中。

酶液用足够量的pH7磷酸缓冲液处理使磷酸盐液度达0.02mol/L并冷至0℃。在保持温度低于-5℃和旋转瓶子下，慢慢加入乙醇直至乙醇浓度达到20～25%。混合液在-10℃至-5℃离心。沉淀用冷缓冲液（不到40mL已足）处理，并搅拌和用玻棒剧烈摩擦以诱导ADH的结晶，并使血红蛋白和其他杂质溶解。30分钟至1小时后，离心收集结晶。加入25mL容积冷缓冲液或含5%乙醇的冷缓冲液，结晶充分搅匀，放置约半小时，离心。重复2或3次，每次缓冲液量递减以得到纯酶。

结晶产物悬浮于约10ml 0.02mol/L(pH7)磷酸缓冲液中，对水透析以除去所有乙醇。如果最后透析延长至几天，结晶可能溶解，但其活力或纯度并无损失。纯酶可以用结晶悬浮液或在盖以甲苯的pH 9的水溶液在低温下保藏。

贮存　冻干粉在+4℃干燥保存，6个月内活力下降约10%。结晶悬浮液+4℃保存，6个月内活力下降约40%。

参 考 文 献

〔1〕 Westerfeld W. W.; "Biochemical Preparations", Vol. 4, John Wiley and Sons, Inc., New York; Chapman and Hall, Limifed, London, 29～34, 1955.

醛 缩 酶　　I-2(1)-0006

Aldolase

别名　醛醇缩合酶　Zymohexase; D-Fructose-1,6-biphosphate-D-glyceraldehyde-3-phosphate-lyase

FC　4.1.2.13

分子量　161000±3000，一分子由四个亚基组成，亚基分子量　40000

酶反应

D-果糖-1,6-二磷酸 ⇌ 磷酸二羟丙酮
+D-甘油醛-3-磷酸

此酶对醛醇缩合反应是特别专一的。

醛缩酶存在于所有的动、植物和大多数的微生物中。醛缩酶I（在动物和高等植物）不

需要二价金属离子作辅助因子；醛缩酶Ⅱ（在低级细胞如酵母和细菌）需要一金属辅助因子，并被EDTA所抑制。

抑制剂　Cu^{2+}，Ag^{+}和Zn^{2+}，邻菲啰啉免肌醛缩酶竞争性地被ATP、ADP和AMP所抑制，抑制能力为ATP>ADP>AMP，肝酶受AMP≫ADP所抑制，但不受ATP所抑制。它还受N-溴化乙酰乙醇胺磷酸盐磷酸吡哆醛所抑制。

蛋白测定　$A_{280}\times1.06$=mg酶/mL，1cm光径

合成方法[1]

1．抽提　用静脉注射1～5mL 5%戊巴比妥钠溶液使兔子麻醉。割断颈静脉，尽量使血排完全。快速剥去皮，取主要的骨骼肌。以下各步骤在0～5℃冷室中进行。肌肉通过冷绞肉机绞碎进入一称过重的盆子中，加入两倍肉重的冷蒸馏水，并混合均匀，在冷处不时搅拌10分钟。抽提液经纱布过滤。残渣用同样量的水抽提如前。合并抽提液。用同一兔肌抽提液除醛缩酶外，还可提取结晶磷酸化酶，或结晶D-甘油醛磷酸脱氢酶。小心加入冷0.1mol/L氢氧化钠（每100mL抽提液需约5～15mL）以调节抽提液的pH至约7.5。

2．硫酸铵分级　量出抽提液（pH7.5）的容积，并加入等容积的25℃饱和硫酸铵（pH7.5)。硫酸铵溶液不应该冷却。轻轻地搅拌均匀并冷至0～5℃。沉淀在冷室用折迭滤纸除去，可用自动过滤装置，过滤过夜。

3．结晶　量出清滤液容积，加入足够量的硫酸铵溶液（pH7.5)，使达0.52饱和度（每100mL滤液加4mL硫酸铵溶液）。溶液放置冷处时，要经常搅拌。12小时或更长时间后，转动溶液可观察到细的结晶在闪；结晶放置并不沉下。起初的结晶可以加晶种以加速之，或把溶液温至室温接着移至冷室。为了要得到最高产率，可进一步放置数日。

结晶的沉淀过滤或高速离心分离，温度不得高于5℃，因为杂蛋白会沉淀。

4．重结晶　醛缩酶可以从硫酸铵溶液中重结晶得到。在pH7.6得针状，或在pH低于6时得双金字塔形结晶。较低的pH对纯化更有效。要除去磷酸三糖异构酶需要重结晶8或9次。

结晶酶悬浮于2mol/L硫酸铵溶液中0～4℃可保存数周，活力仅稍稍下降。保存酶的具塞容器中悬有一小管（开口的）甲苯。

针状结晶　细针的沉淀溶于小量冷水中，（重结晶也可在室温中进行）。小心加入稀氢氧化钠或氢氧化铵或磷酸缓冲液调节pH至约7.5。加入pH7.5的饱和硫酸铵溶液至出现浑浊，所得溶液在冷处放置几小时，并在冷处过滤或离心，除去少量无定形物、不溶解的杂质。缓慢地加饱和硫酸铵（pH7.5）至清冷滤液中，几乎立即有结晶析出，此过程在0.5饱和度到达之前完成。

双金字塔状结晶　结晶沉淀溶于少量冷水中。不必加入碱或缓冲液，在0～5℃加入未经中和的（pH约5.7）饱和硫酸铵溶液直至持续轻微浑浊。溶液的pH应为6或稍低。溶液过滤或离心，以除去无定形物或不溶解杂质。在此条件下，如果加入晶种，酶以六边形双金字塔形状在24～48小时结晶而出。

贮存　+4℃，稳定6个月。

参考文献

[1] Shemin D.; "Biochemical Preparations", Volume 5, John Wiley and Sons, Inc., New York; Chapman and Hall, Limited, London, 12～19, 1957.

D-氨基酸氧化酶（猪肾） Ⅱ-2(1)-0007

D-Amino acid oxidase

别名 D-AOD；D-Amino acid：oxygen oxidoreductase[deaminating]

EC 1.4.3.3

分子量 37000

酶反应 在氧气存在下，对D-氨基酸氧化脱氨产生相应的α-酮酸。

$$\text{D-RCHNH}_2\text{COOH}+O_2+H_2O \longrightarrow \text{RCOCOOH}+NH_3+H_2O_2$$

（D-氨基酸）　　　　（α-酮酸）

单位定义 在37℃，pH8.3，1分钟氧化1μmol的D-丙氨酸的酶量为1单位。

理化性质 淡黄色极细针状结晶。易溶于稀缓冲液。此酶是一个黄素酶，黄素(FAD)是唯一的辅基。一个单体含1mol的FAD。D-型的脯氨酸甲硫氨酸，异白氨酸，丙氨酸，缬氨酸和苯丙氨酸是好的底物。它也作用于L-脯氨酸，D-乳酸盐和D-赖氨酸，活性部位大概包括半胱氨酸和酪氨酸残基。

最适pH要视底物而定，D-丙氨酸约pH9。

理化参数 结晶酶比活280μl O_2/min/mg蛋白。$A_{280\,1-cm}^{1mg/mL}$1.6。黄素蛋白特征D_{280}/D_{450}为6.7。酶含21.8mμmol黄素/mg；4分子FAD/分子酶。蛋白测定，在$Na_4P_2O_7$缓冲液（20mmol/L）pH8.3，$A_{280}\times0.625$=mg酶/mL。

制备方法[1] 材料用新鲜的猪肾。剖开，除去脂肪、结缔组织和深红色的髓质。125g切片肾在500mL 0.0167mol/L焦磷酸缓冲液pH8.3中，用捣碎机慢速捣30秒，高速捣1分钟，匀浆按下列4步骤纯化。

（1）约4L匀浆移入5L不锈钢烧杯内，浸入60℃水浴中。搅拌匀浆直至温度达38℃。此时烧杯移入另一个39℃水浴中，匀浆在38℃搅拌40分钟。

加入苯甲酸细粉末（1g/L匀浆），并溶解。在38℃再放置5分钟后，小心滴加2mol/L乙酸以调节匀浆的pH至5.2。匀浆放入60℃水浴中使温度上升至40℃，并移入41℃水浴中，在40℃维持5分钟。烧杯浸入冷水中冷却至20℃，匀浆离心（1000×g，1小时）。上清液小心从松的沉淀分离，弃去沉淀。上清液加入固体硫酸铵（250g/L），立即重新离心（1000×g，1小时），弃去上清液。

（2）上述沉淀溶于400mL 0.0167mol/L焦磷酸缓冲液（pH8.3），酶溶液温热至30℃。加入苯甲酸（1g/L）并溶解，用2mol/L乙酸调节pH至5.2。酶置入60℃水浴中维持在52℃7分钟。酶在冰上冷却至10℃后，冷冻离心(24000×g，20分钟)，弃去沉淀。上清液加入固体硫酸铵（113g/L）以沉淀酶。放置20分钟后离心（24000×g，20分钟），上清液弃去。

（3）沉淀溶于冷0.0167mol/L焦磷酸缓冲液（pH8.3）至最终蛋白浓度为12.5mg/mL。加入硫酸铵（82g/L）和粉末苯甲酸（1g/L）。溶液用2mol/L乙酸调节pH至5.2，然后放入60℃水浴中，加热至52℃，并维持此温度7分钟。在冰上冷至10℃后，酶离心（24000×g，20分钟）。沉淀充分悬浮于20mL冰冷0.0167mol/L焦磷酸缓冲液（pH8.3），并重新离心（24000×g，20分钟）。变性蛋白沉淀弃去。橙色上清液用固体硫酸铵（205g/L）使达35%饱和，离心（24000×g，20分钟），要沉淀。

（4）沉淀溶于10mL 0.05mol/L磷酸缓冲液（pH6.3），并对2L冰冷0.05mol/L磷酸缓冲液（pH6.3）透析过夜。透析时，形成的少量沉淀离心（24000×g，20分钟）除去。酶

吸附在预先在冷处用0.05mol/L磷酸缓冲液平衡过的磷酸钙凝胶-纤维素柱上。柱用0.05 mol/L磷酸缓冲液（pH6.3）洗，酶以一宽黄带从柱上移动下来，留下一红棕色含铁的杂质吸附在柱的顶部。收集有活力的洗脱物，加入硫酸铵（205g/L）使酶沉淀。放置20分钟后，离心（24000×g，20分钟）。

结晶　沉淀溶于0.05mol/L磷酸缓冲液（pH6.3）中，滴加饱和硫酸铵溶液直至稍浑。酶液置0℃待结晶。有时柱洗脱物的比活较正常者低，提高的方法是弃去第一部分结晶，使上清液继续结晶。

酶回收率8.5%，总纯化倍数530。柱洗脱物不含铁。

贮存　+4℃

参 考 文 献

〔1〕 Massey V., Palmer G. and Bennett R.: Biochim. Biophys. Acta, 48,1,(1961).

L-氨基酸氧化酶（蛇毒）　　Ⅱ-2(1)-0008

L-Amino acid oxidase

别名　L-AOD；L-Amino acid: oxygen oxidoreductase〔deaminating〕

EC　1.4.3.2

分子量　140000（含两个不同的亚基70000）

酶反应　同D-氨基酸氧化酶。对L-型是绝对专一的。

$$\underset{\text{L-氨基酸}}{\text{L-RCHNH}_3^+\text{COO}^-} + O_2 + H_2O \longrightarrow \underset{\alpha\text{-酮酸}}{\text{RCOCOO}^-} + NH_4^+ + H_2O_2$$

单位定义　在25℃，pH7.6，1分钟氧化1μmol分子的L-白氨酸的酶量为1单位。

理化性质　此酶为糖蛋白，含两个不同的亚基，其分子量各约为70000。1分子全酶有2个黄素（FAD）分子。最适pH为：对白氨酸约7.5。$A_{275}^{1\%}=17.9$。

抑制剂　芳香族羧酸盐、磺酸、硫酰胺。

蛋白测定　在100mmol/L KCl，$A_{275}\times0.56=$mg酶/mL

制备方法[1]　纯化和结晶

1．蛇毒的热处理　干*Crotalus adamanteus*蛇毒1g溶于100mL蒸馏水室温（23℃）置300mL三角烧瓶中。加入10mL 0.1mol/L L-白氨酸，瓶子立即用三孔活塞塞好。活塞配有一温度计，和通氮用的玻璃管。在通氮情况下，溶液快速加热（采用90℃浴加热，3分钟内到达70℃）至70℃，维持此温度5分钟，同时温和地振播瓶子。溶液在冰浴冷却，沉淀的蛋白质离心(8000×g，10分钟）除去并弃之。以下几步在0～5℃之间进行。

2．凝胶处理　第1步的上清液(有时不透亮的)用15mL磷酸钙凝胶(干重，27mg/mL)处理，搅拌滴加约5mL 0.1mol/L盐酸调pH至5.5。放置0℃30分钟（间歇搅拌）后，悬浮液离心(4000×g，10分钟)，上清液弃去。凝胶重新悬浮于120mL冷蒸馏水中洗涤，离心（4000×g，10分钟)，重复1次。洗涤液不含酶活力，弃去。凝胶用玻璃匀浆器充分重新悬浮于35mL 2.30mol/L硫酸铵溶于0.08mol/L乙酸钠缓冲液(pH4.6)中。放置1小时（间歇搅拌）后，悬浮液离心(8000×g，10分钟)，沉淀弃去。

3．硫酸铵沉淀　4.8g固体硫酸铵溶于第2步的上清液（34mL）中。在0℃放置15分钟后，酶液离心（8000×g，15分钟)，无色上清液弃去。黄色沉淀溶于1mL冷蒸馏水中。

4. 透析 酶液装入透析袋，对6～7L冷（0～5℃）蒸馏水透析（要不断搅拌）。每3小时换一次水。24小时内结晶出现。离心收集结晶。

5. 重结晶 结晶溶于1mL 0.1mol/L氯化钾。不溶物离心除去。溶液同前透析。结晶通常在15分钟内开始，实际上2小时内完成。结晶呈长狭黄色针状，用普通显微镜低倍即易见。产率40～72%，比活6400～7630U/mg。

贮存 含硫酸铵的酶液在室温一周内稳定。在5℃数月内稳定。如果保存于－5℃～－60℃可能使酶失活。

参考文献

〔1〕 Meister A.: "Biochemical Preparations", Vol. 8, John Wiley and Sons, Inc., New York, London, 23～27, 1961.

α-淀粉酶

Ⅱ-2(1)-0009

α-Amylase

别名 α-1,4-葡聚糖-4-葡聚糖水解酶 1,4-α-D-Glucan-glucanohydrolase

EC 3.2.1.1

分子量 约50000

酶反应 淀粉酶是水解淀粉和糖原酶类的统称。按照水解淀粉方式的不同，主要的淀粉酶可分为四大类：1. α-淀粉酶，它以糖原或淀粉为底物，从分子内部切开α-1,4糖苷键而使底物水解，生成糊精和还原糖，产物的末端葡糖残基C_1碳原子为α-构型，故称α-淀粉酶；2. β-淀粉酶；3. 葡糖淀粉酶；4. 解枝酶或异淀粉酶。

单位定义 在25℃，pH6.9，1单位的酶1分钟从可溶性淀粉释放出1μmol的还原糖（以麦芽糖计）。

理化性质 一般α-淀粉酶在pH5.5～8稳定，pH 4以下易失活，酶活性的最适pH 5～6。哺乳动物的α-淀粉酶能被氯离子激活，在氯离子存在下其最适pH 7.0。高等植物的α-淀粉酶在pH3.6失活，但在霉菌中，黑曲霉α-淀粉酶耐酸性强。黑曲霉NRRL330α-淀粉酶的最适pH为4.0。在pH2.5，40℃处理30分钟尚不失活。然而在pH7.0时，55℃处理15分钟，几乎不损失，而在pH2.5处理则完全失活。曲霉的α-淀粉酶可分为耐酸性和非耐酸性二种，黑曲霉生产的主要是耐酸性的，而米曲霉所产生的以非耐酸性为主。耐酸性的α-淀粉酶在pH2.0仍保留原始活性80%以上。但在中性和碱性下极不稳定。黑曲霉NRRL 337 α-淀粉酶的耐酸性部分的最适pH为4.0，在pH2.5～6.5稳定，非耐酸性部分的最适pH6.5，在pH 5.5～9.5稳定。

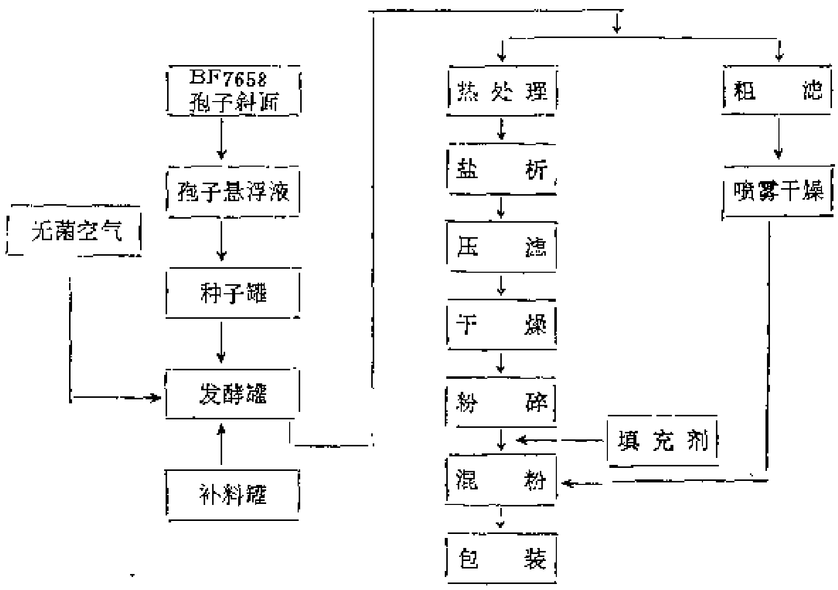
枯草杆菌 α-淀粉酶的最适pH范围为5～7。嗜碱细菌中存在着最适pH为4.0～11.0的α-淀粉酶。嗜碱性芽孢杆菌NRRL B3881最适pH9.2～10.5，嗜碱性假单孢杆菌的α-淀粉酶最适pH为10。

α-淀粉酶是一种金属酶，每分子酶含一摩尔Ca^{+2}。纯化的α-淀粉酶在50℃以上容易失活，但是有大量钙离子存在下，酶的热稳定性增加。组氨酸及氨基是α-淀粉酶表现其活性所必需的。激活剂为氯离子；抑制剂为尿素及其他酰胺试剂。蛋白测定 在水中，$A_{280}\times0.41$＝mg酶/mL

制备方法[1]

枯草杆菌BF7658 α-淀粉酶的制造。枯草杆菌BF7658是我国产量最大、用途最广的一种液化型α-淀粉酶，其最适pH6.5左右。在pH低于6，高于10时，酶活显著降低，最适温度65℃左右，60℃以下稳定。在淀粉浆中酶的最适温度80～85℃，90℃保温15分钟，保留酶活87%。

1. 工艺流程



2. 生产菌种选育　采用物理化学方法反复处理后，得到一株菌株11～12，其产酶提高50%，该菌株呈短杆状，革蓝氏阳性，两端钝圆，单独或成链状，在肉汁表面可生成菌膜，在淀粉培养基上菌落呈乳白色，表面光滑湿润，略有光泽无皱纹，有粘稠性，用碘液试之菌落周围呈透明圈。

将上述菌株接种于马铃薯琼脂或淀粉琼脂斜面，37℃培养27或28小时后，置于4℃冰箱保存，二个月移植1次。马铃薯琼脂斜面形成的芽孢多于淀粉琼脂斜面，保存效果较好，两种斜面可交替使用。蜡封马铃薯斜面可保藏半年，若需长期保藏，宜采用砂土管（3～5年）或冷冻干燥保存。

3. 扩大培养　将试管斜面菌种接种到马铃薯茄子瓶斜面（20%马铃薯煎出汁加$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 5mg/L，琼脂2%，pH6.7～7.0），37℃培养三天（使之形成芽孢以提高种子的稳定性），然后，接入到500L种子罐，37℃搅拌300转/分，通风（1∶1.3～1∶1.4$m^3/m^3/min$）培养12～14小时。此时菌体生长进入对数生长期（镜检细胞密集，粗壮整齐，大多数细胞单独存在，少数呈链状，发酵液pH6.3～6.8，酶活5～10单位/mL），乃转入10000L发酵罐，在在37℃，通风量0～12小时0.67$m^3/m^3/min$，12小时至发酵结束1.33～1.0$m^3/m^3/min$，搅拌200转/分，培养40～48小时。中途用3倍浓度碳源的培养基补料，体积相当于基础料的1/3，从培养12小时开始，每小时1次，分30余次添加完毕。停止补料后6～8小时罐温不再上升，菌体衰老80%形成空泡，每2～3小时取样分析一次，当酶活不再升高，就结束发酵，向发酵液中添加2%$CaCl_2$、0.8%Na_2HPO_4，50～55℃加热处理30分钟，以破坏共存的蛋白酶，促使胶体凝聚而易于过滤，冷却到35℃进行提炼。

采用中途补料，可避免原料中淀粉降解生成的糖过量堆积而引起分解代谢阻遏，有利于酶的诱导，有利于pH的控制，延长产酶期，提高产量。在原料最终用量相同情况下，中途

补料的酶产量比一次投料高14%。当pH降到6.5以下，菌形粗壮时，补料量可酌减，当pH高于6.5时，细胞出现衰老现象有空泡时，则补料量酌量增加。

种子和发酵培养基组成如下：

培养基组成

组　　成	种子，%	发　酵		
		基础料，%	补料，%	总量，%
豆饼粉	4	5.6	5.3	5.5
玉米粉	3	7.2	22.3	11
Na_2HPO_4	0.8	0.8	0.8	0.8
$(NH_4)_2SO_4$	0.4	0.4	0.4	0.4
$CaCl_2$		0.13	0.4	0.2
NH_4Cl	0.15	0.13	0.2	0.15
α-淀粉酶①		100万单位	30万单位	
体积，L	200	4500	1500	6000

① 用于杀菌时（120℃，30分钟）液化培养基中淀粉。

4. 提取

（1）盐析法　发酵液经热处理，冷却到40℃，加入硅藻土助滤。滤饼加2.5倍水洗涤，洗液同发酵滤液合并后，在45℃真空浓缩数倍后，加硫酸铵40%盐析，盐析物加硅藻土后压滤，滤饼于40℃烘干后，磨粉即为成品。按此工艺由酶液到粉状酶制剂的收率为70%。

（2）酒精淀粉吸附法　发酵液加0.7%Na_2HPO_4、1%$CaCl_2$，50～55℃维持30分钟，冷却到40℃压滤除渣。酶液在低温下，经刮板薄膜蒸发器浓缩到含固形物35～40%，加入与其干物等量的淀粉，然后在搅拌的同时，缓缓加入2倍量的10～15℃酒精，使终浓度达60%左右，继续搅拌数分钟，静止数小时，待沉淀完全离心分离，沉淀物于50℃热风干燥后磨粉，酶的收率约60%。

酶活测定方法之一：以60℃ 1小时内催化2%可溶性淀粉成为糊精的克数表示酶活性。

酶活测定方法之二：以30℃每小时催化1mL 2%可溶性淀粉成为糊精所需的酶量称为一个单位。

参 考 文 献

〔1〕 张树政："酶制剂工业"（下册），科学出版社，456页，1984年。

β-淀 粉 酶　　Ⅱ-2(1)-0010

β-Amylase

别名　淀粉-1,4-麦芽糖苷酶1,4-α-D-Glucan maltohydrolase

EC　3.2.1.2

分子量　152000±15000（甘薯），亚基50000

酶反应　β-淀粉酶作用于淀粉时，可从α-1,4-糖苷键的非还原性末端顺次切下麦芽糖单位，遇到α-1,6-键的分支点，则停止不前。其分解产物为麦芽糖及大分子β-界限糊精。在该酶作用于底物时，同时发生沃尔登转位反应，使产物由α-型变为β-型麦芽糖，故称β-淀粉酶。

单位定义 在25℃，1分钟释放1μmol的麦芽糖的酶量为1单位。

理化性质 β-淀粉酶最早来源于高等植物（大豆，小麦，大麦和甘薯），它们作用最适pH大豆5.3，小麦5.2，大麦5.0～6.0和甘薯5.5～6.0，以及pH稳定性范围(大豆5.0～8.0，小麦4.5～9.2，大麦4.5～8.0)都有差异。早在1940年就有人发现许多属于芽孢杆菌属（Bacillus）的细菌具有β-淀粉酶活性，并发现多粘芽孢杆菌（Bac. polymyxa）能产生类似于大麦麦芽抽提物的淀粉酶或淀粉酶系。典型细菌β-淀粉酶对直链淀粉、支链淀粉和糖原的分解率则分别为100、50和42%。但有一些微生物的β-淀粉酶的等电点pH值较高。在耐热性方面，微生物β-淀粉酶优于高等植物的β-淀粉酶，更适合于工业应用。

理化参数 pI大豆5.1，小麦6.0，大麦6.0，甘薯4.8，巨大芽孢杆菌（Bac. megaterium）9.1，多粘芽饱杆菌8.6。蛋白测定$A_{280}\times 0.59=$mg酶/mL。

制备方法[1] 采用巨大芽饱杆菌β-32生产β-淀粉酶。所采用的培养基组分为（%）：乳酪5，玉米浆2，可溶性淀粉10，加水配成15L培养基，在发酵罐中进行灭菌，并调节培养基pH为7.0～7.2。接入巨大芽饱杆菌β-32，于30℃搅拌培养2天，发酵液酶活性达25.5U/mL。

将发酵液于8000转/分钟离心20分钟，除去菌体，清液中加入硫酸铵，沉淀后得到粗酶制剂。将制剂溶于0.01mol/L乙酸盐缓冲液中，酶液对自来水透析3天，逐滴加入25%乙酸铅溶液，使其中杂质沉淀，离心除去。

将所得制剂再次用硫酸铵盐析（溶解于0.01mol/L乙酸缓冲液中)。酶液于60℃受热15分钟。再按上述方法进行透析，将进一步得到纯化的酶吸附于SE-Sephadex G-25上，用0.5mol/L氯化钠液洗涤，然后用Sephadex G-100凝胶过滤。将活性级分冷冻干燥，得2000mg固体制剂，β-淀粉酶活性为100U/mg，回收率为50%。

贮存 结晶悬浮于3.2mol/L硫酸铵 pH约3.5溶液中，+4℃保存，6个月内检测活力不下降。

参 考 文 献

〔1〕 张树政："酶制剂工业"（下册），科学出版社，634，1984年。

精氨酸酶（小牛肝） Ⅱ-2(1)-0011

Arginase

别名 L-Arginine amidinase; L-Arginine amidinohydrolase

EC 3.5.3.1

分子量 140000

酶反应

$$\underset{\text{精氨酸}}{\text{HOOC-CHNH}_2\text{—(CH}_2)_3\text{—CH—NH}\overset{\text{NH}}{\overset{\|}{\text{C}}}\text{NH}_2} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \underset{\text{乌氨酸}}{\text{HOOC-CHNH}_2\text{—(CH}_2)_2\text{-CHNH}_2} + \underset{\text{尿素}}{\text{O=C(NH}_2)_2}$$

单位定义 在25℃，pH9.5(玻璃电极)，1分钟在底物为0.285mol/L时释放1μmol(0.06mg)的尿素，含0.028mg氮的酶活力为1单位。

理化性质 无色、比较稳定的蛋白质。pH7.0的水溶液能长期置4℃而不丧失活力，但在室温则不行。在pH低于6.0和高于9.0时，此酶非常不稳定，甚至在0℃也很快丧失活力。纯

化酶制剂在高度稀释时不稳定，但能被0.0025mol/L鸟氨酸或0.02mol/L甘氨酸和0.285mol/L精氨酸所稳定。中性水溶液冷冻干燥可得白色粉末，重新溶解并不损失活力。冻干粉在室温长期保存并不丧失活力。

制备方法[1] 新鲜马肝或牛肝、深颜色但不带黄色。迟春或初夏时屠宰的马肝精氨酸酶活力最高。肝脏用干冰埋藏结冻待用。用前解冻，去除杂质并在绞肉机中绞碎。

（1） 3或4公斤肝，每公斤肝碎加2L水。在剧烈搅拌下用0.1mol/L氢氧化钠调pH至约7.6。75mL 2.0mol/L硫酸锰分小部分（15～20mL）与足量的0.1mol/L氢氧化钠交替加入以维持pH在6.5～7.7之间，最终pH为7.6。加入水使溶液的总容积为3L/kg肝。搅拌加入50mL甲苯。混合物在冷室抽提过夜，然后用一层纱布过滤。得抽提液A。

（2）在搅拌下，等量的抽提液A和冷重蒸丙酮混合，立即离心（850×g，20分钟，3℃）。弃去上清液。沉淀沥干5分钟，用25mL0.05mol/L顺丁烯二酸盐，0.05mol/L硫酸锰，pH7.0溶液/原来所用100mL抽提液A。重新悬浮的沉淀同上离心1.5小时，弃去沉淀。上清液（抽提液B）为清、红色，在室温变成浑浊。

（3）抽提液B以250mL为一批，置1L三角烧瓶内在60℃水浴内经常搅拌20分钟。瓶子在自来水笼头下冷却。抽提液在布氏漏斗上过滤，漏斗上盖以橡胶垫（抽提液C），

（4）抽提C，对0.001mol/L顺丁烯二酸盐－0.001mol/L硫酸锰溶液（pH7.0）彻底透析，并冷冻干燥，得粉末D(3.5～4.0g/kg肝)。

（5）0.05mol/L硫酸锰用硫酸铵在冷处饱和，并用浓氢氧化铵调节pH至7.2。制备8%粉末D在0.2mol/L顺丁烯二酸盐－0.05mol/L硫酸锰溶液（pH7.45)。所得溶液的pH应为7.0。加入1滴辛醇，在搅拌下慢慢加入上述饱和硫酸铵（81.8mL/100mL蛋白溶液）。溶液放置30分钟，然后离心（15000×g，30分钟)。弃去沉淀，加入上述硫酸铵溶液（37.5mL/100mL上清液)，并同前离心。弃去上清液。沉淀溶于0.05mol/L硫酸锰－0.05mol/L顺丁烯二酸盐溶液（pH7.0)，并对0.001mol/L顺丁烯二酸盐－0.05mol/L硫酸锰溶液（pH7.0）透析，蛋白溶液冷冻干燥，得粉末E。

（6）制备5%的粉末E水溶液，其pH应为7.0。加入第5步的硫酸锰-硫酸铵溶液（94mL/100mL蛋白溶液)，并如第1步硫酸铵分级处理。加36mL硫酸铵/100mL上清液，并同前离心。沉淀溶于0.005mol/L顺丁烯二酸盐－0.01mol/L硫酸锰（pH7.0)、并对之充分透析后，蛋白溶液用同样溶液稀释至0.4mg蛋白氮/mL（溶液F)。

（7）在0℃，搅拌下缓慢加入甲醇至溶液F中(13.7mL/100mL蛋白溶液)。溶液冷却至－5℃并离心（1600×g，1小时，－5℃)。弃去小量沉淀，上清液置－9℃冰浴中。为了避免其结冻，立即搅拌慢慢加入甲醇（29.4mL/100mL上清液)。溶液使达－9℃，并同上在－9℃离心。加入小量冷0.005mol/L顺丁烯二酸盐－0.01mol/L硫酸锰溶液（pH7.0）至沉淀，直接冷冻干燥，得粉末G。

（8）粉末G溶于0.01mol/L顺丁烯二酸盐－0.03mol/L Mn^{2+}溶液（pH6.9）并对之透析。透析后蛋白溶液用同样溶液稀释至0.5mg蛋白氮/mL。在0℃搅拌下缓慢加入冷的重蒸的二乙二醇-乙醚乙酸盐（27mL/100mL蛋白溶液)。溶液冷却至0℃，离心（650×g，45分钟，0℃)。沉淀溶解，上清液置0℃冰浴中直至达到热平衡。在搅拌下缓慢加入二乙二醇-乙醚乙酸盐（26mL/100mL蛋白溶液)。溶液离心（650×g，45分钟，0℃)。弃去上清液，沉淀溶于小量的0.03mol/L硫酸锰－0.01mol/L顺丁烯二酸盐溶液（pH6.9）并对之充分透析以除去残留的二乙二醇-乙醚乙酸盐，然后冻干得粉末H。

贮存 干燥，+4℃保存。

参考文献

〔1〕 Colowick S. P. and Kaplan N. O.: "Methods in Enzymology", Vol Ⅱ, Academic Press, New York, 371～373, 1955.

菠萝蛋白酶 Ⅱ-2(1)-0012

Bromelain (pine apple)

EC 3.4.22.4

分子量 约33 000

酶反应 蛋白水解成Folin阳性的氨基酸和肽。

单位定义 1单位能在37℃，1分钟释放相当于1μmol酪氨酸的酶量。

理化性质 酶在25%（v/v）甲醇中，25℃ 20分钟是稳定的，而在20%（v/v）乙醇中37℃ 20分钟则丧失水解酪蛋白的活力33%。酶溶液pH6.10，在55℃加热20分钟导致活力损失50%。冷冻干燥使活力下降27%。

理化参数 pI 9.55。

制备方法[1]

1. 抽提 10g菠萝蛋白酶（商品）悬浮于100mL 0.05mol/L磷酸钾缓冲液(pH6.1)，室温30分钟。离心（2000转/分钟，20分钟），沉淀弃去。

2. 阴离子交换树脂处理 从此步起在冷室进行。上清液（第1部分）注入Duolite A-2（粗颗粒）柱4.5×19cm，预先用0.05mol/L磷酸钾缓冲液（pH6.1）平衡过夜。先流出的100mL弃去，随后用同样缓冲液洗脱，收集400mL流出液（第2部分）。

3. 阳离子交换树脂处理 第2部分注入Amberlite C G-50，1型（100～200目）柱4.5×31.5cm，柱预先用0.2mol/L磷酸钾pH6.1缓冲液平衡。用200mL同样缓冲液洗，然后用5L 0.05mol/L磷酸钾缓冲液（pH6.1）洗涤过夜。流出液弃去。吸附在柱上的酶以800mL 0.2mol/L磷酸氢二钾含1mol/L氯化钾的溶液洗之。最初流出的250mL流出液弃去，随后的250mL洗脱物（第3部分）收集。

4. 凝胶过滤 加入100g硫酸铵至第3部分，1小时后形成的沉淀离心（8000转/分钟，20分钟）收集。沉淀溶解于50mL 0.05mol/L乙酸钠缓冲液（pH5.2）中（第4部分）。第4部分注入Sephadex G-100(140～400目）柱4.5×31.5cm，柱预先用0.05mol/L乙酸钠缓冲液（pH5.2）洗之。柱用同样缓冲液洗，最初的320mL流出液弃去❶。随后的150mL流出液（第5部分）收集。

5. 硫酸铵分级 加入38.5g硫酸铵至第5部分使成0.42饱和度。1小时后相当浑浊的混合液离心。加入8.8g硫酸铵至上清液使达0.50饱和。菠萝蛋白酶沉淀离心收集（8000转/分钟，20分钟）后，溶解于30mL水中，对5L水透析48小时（换4次水）（第6部分）。

纯化步骤至第6部分可在5天内（包括2天最后透析）完成。

贮存 纯化制剂冰冻保存，其活力能保持1年。5℃，pH4～10，24小时保持其水解酪蛋白的活力。

---

❶ 凝胶过滤主要是除去存在于第4部分的碳水化合物杂质，必须留心不要收集流出液的最初的几部分，它含较大分子的碳水化合物。

参 考 文 献

〔1〕 Perlmann G. E. and Lorand L.: "Methods in Enzymology", Vol XIX, Academic Press, New York and London, 276, 1970.

羧肽酶A（牛胰） Ⅱ-2(1)-0013

Carboxypeptidase A (bovine pancreas)

别名 肽酰-L-氨基酸水解酶Peptidyl-L-amino acid hydrolase; Carboxypolypeptidase; CPA

EC 3.4.17.1

分子量 34600

酶反应

$$R—CONH—CHR'COOH + H_2O \longrightarrow RCOOH + H_2NCHR'COOH$$

肽　　　　　　　　肽

单位定义 在25℃，pH7.5，1分钟水解1μmol马尿酰-L-苯丙氨酸的酶量为1单位。

理化性质 牛羧肽酶A的各种形式都不溶于水。但是，加入盐后酶慢慢溶解。它们各自有不同的溶解度。在盐溶液中溶解度按下列次序递增：CPA_α<CPA(cox)<CPA(Allan)<CPA_β<CPA(Anson)<CPA_γ。常规操作CPA(Anson)可溶于1mol/L氯化钠（0℃）以缓冲液维持pH7.5的溶液中。如需浓酶液(14～19mg/mL)则需4小时才溶解完全。如果要增加溶解速度可将结晶在0℃直接溶于5mol/L氯化钠，0.005mol/L磷酸钾(或0.005mol/L Tris-Cl(pH7.5)并以缓冲液稀释至所需盐浓度。这样处理可省约2.5小时，也不影响酶活力。

稳定性：在0℃，pH7.0～10.0，酶制剂是稳定的。CPA(Allan)在pH 4.6～11.3之间在0℃，酶浓度0.62～1.27mg/mL溶于含1mol/L氯化钠的柠檬酸，Tris，甘氨酸，磷酸缓冲液中62小时内是稳定的。在此pH范围外，快速变性出现。CPA(Anson)浓度8.4×10^{-5}mol/L溶于0.05mol/L Tris-Cl，1mol/L氯化钠在pH7.5，4℃稳定50小时；但是，在25℃24小时后酶丧失其酯酶活力的1/6(pH7.5)，1/3(pH5.5)和1/3(pH9.0)。CPA(Anson)(1.5mg/mL)在浓度为4mol/L的尿素中，0℃下，pH7.5，24小时是稳定的。在5mol/L的尿素中，它失活50%而在7mol/L的尿素中，它完全失活。在7mol/L以下尿素中失活是可逆的，但7mol/L尿素以上的变性则是不可逆的。

激活剂CPA含1锌原子/分子酶，大概在活性部位。锌对活力是必需的。如果透析时损失了，是可以再加上去。

抑制剂　半胱氨酸，硫化物和氰化物。但不被二异丙基磷酸氟所抑制。被1,10-菲啰啉螯合剂所强烈地抑制。

理化参数 最适pH7～9，视底物而定。$A^{1\%}_{278nm}$19.4。

制备方法[1]

1. 粗结晶　胰腺渗出液在冷室收集，提高pH至7.8在37℃活化。1小时后活化的汁用乙酸调pH至4.6立即用冷蒸馏水稀释10倍，同时维持pH在4.6。放置4℃5小时后，优球蛋白沉淀，离心收集，悬浮于冷蒸馏水中，用氢氧化钡在4℃调pH至6。悬浮液离心，沉淀重新悬浮于水，用氢氧化钡调pH至9.5。离心后，上清液用乙酸调pH至7.2并加入晶种析出结晶。重结晶：把结晶溶于10%氯化锂中，对水在4℃透析。

2．柱层析纯化羧肽酶A　DEAE纤维素(DE-52)用0.5mol/L盐酸和0.5mol/L氢氧化钠处理，用0.05mol/L β-苯基丙酸（β-PP），0.04mol/L氯化锂，0.05mol/L Tris(pH7.5)（用10mol/L氢氧化钠在室温调节）平衡之。装柱（2.5×100cm）至90cm，流速 300mL/h并移至4℃。把浮漂放在吸附床上端，柱用pH7.5缓冲液平衡过夜，流速150mL/h。所有以下操作在0～4℃进行。800mg羧肽酶A结晶，溶于 4.5mL 2mol/L Tris，0.05mol/L β-苯基丙酸，0.04mol/L氯化锂，pH7.5溶液中，离心（3000转/分钟，10分钟）。37mL0.05mol/L β-苯基丙酸，0.04mol/L氯化锂，pH7.5加入至上清液对2L柱层析缓冲液透析 4 小时。样品离心（3000转/分钟，10分钟）。重新调节浮漂，上清液上柱，流速48mL/h。洗脱继续进行，流速93mL/h，约72小时完成。（19mL/管）。Ⅰ峰为CPA_{α}^{Val}；Ⅱ峰为CPA_{β}^{Val}；Ⅲ峰为CPA_{β}^{Leu}；Ⅳ峰为CPA_{γ}^{Val}；Ⅴ峰为CPA_{γ}^{Leu}。

3．羧肽酶A_{γ}^{Val}和羧肽酶A_{γ}^{Leu}的结晶Ⅳ峰和Ⅴ峰分别合并，在4℃浓缩至10～20mL,对6L冷0.005mol/L Tris-Cl(pH7.5）透析。过夜，结晶形成。小心用冷0.005mol/L Tris-HCl（pH7.5）洗涤几次，并重结晶两次（溶于冷5mol/L NaCl，0.05mol/L Tris-Cl，pH7.5中，以40mL蒸馏水稀释，在4℃对0.005mol/L Tris-Cl，10^{-7}mol/L氯化锌（pH7.5)透析。结晶小心洗涤，保存于0.005mol/L Tris-Cl中（pH7.5)，甲苯蒸气下。

参 考 文 献

〔1〕 Perlmann G. E. and Lorand L.: "Methods in Enzymology", Vol XIX, Academic Press, New York and London, 479, 1970.

过氧化氢酶（牛肝）　　Ⅲ-2(1)-0014

Catalase(bovine liver)

别名　H_2O_2∶H_2O_2 oxidoreductase

EC　1.11.1.6

分子量　250000，亚基60000

酶反应　$2H_2O_2 \longrightarrow 2H_2O + O_2$

单位定义　在25℃，pH7.0，1分钟分解1μmol过氧化氢的酶量为 1 单位（A_{240}测定）。

理化性质　过氧化氢酶是最易得到结晶的酶之一。可制自小羊肝、马肝、牛红血球、牛肝。猪肝等。

抑制剂　抗坏血酸盐和其Cu^{2+}。

理化参数　最适pH约 7.0。pI5.4。

制备方法[1]

一、用绞肉机绞牛肝四遍，每300 g 肝碎和 400mL 35%二氧六环混合。搅拌 4 或 5 分钟后，置32cm折迭滤纸过滤，上面用玻璃盖之，下面用 500mL 量筒接滤，在室温下过滤，过夜。每100ml 滤液在搅拌下加以 20mL 二氧六环，置冰箱12小时或更长时间，在冰箱中过滤和重新过滤直至滤液完全澄清。每100mL滤液加 10.2mL 二氧六环以沉淀过氧化氢酶。置冰箱过夜，然后过滤过氧化氢酶，如果需要重新过滤。滤纸上的沉淀必需置冰箱中直至所有的液体都滤完。然后展开滤纸在几张干滤纸上。用勺刮出沉淀，置烧杯中。视沉淀产量的多少，对每300 g 肝所得的沉淀加 5～15mL 的水，搅拌并加几滴胰脏淀粉酶以消化糖原。然后在室温过滤，残渣再抽提 1 次。

合并滤液，结晶过氧化氢酶可选下列方法之一进行。

（1）冷却滤液，小心地加入饱和硫酸铵直至模糊出现为止。过氧化氢酶几乎立即以细针状结晶而出。置冰箱中，并加入硫酸铵直至得到高产量。可是，不要加很过量的硫酸铵，因为过氧化氢酶结晶以针状存在，从高相对密度的溶液中是难以离心下来的。

（2）调节上述合并滤液pH约5.7为过氧化氢酶的等电点，然后，对蒸馏水透析1～2天，换几次水。过氧化氢酶以非常薄片状和有时以棱柱形结晶而出。用显微镜观察悬浮液，当有相当量的球状体出现时停止透析。

结晶可以悬浮于硫酸铵溶液中保存相当的时间而没有感觉到的活力损失。结晶也可以保存于蒸馏水悬浮液中，不过，由于细菌的作用，这样会逐渐变质，除非它们是从灭菌的溶液中结晶。

二、新鲜牛肝通过绞肉机绞四遍。每公斤肝碎加1500mL蒸馏水并混匀。将1容积的95%乙醇和1容积的化学纯氯仿混匀，并加入480容积这混合液至每1000容积的肝悬浮液中。剧烈振摇30秒，在室温用折迭滤纸过滤。当大部分的液体滤过时，漏斗上残留物用蒸馏水洗涤（每公斤的肝用约500mL）。

加入冰乙酸，小心地调节滤液至pH5.7，离心，除去杂蛋白。每1L滤液加入pH5.7的磷酸三钙悬浮液（30～35mg/mL）250mL，并混匀10～15分钟。立即离心，弃去上清液。从吸附复合物中用200mL0.1mol/L磷酸缓冲液（pH8.0）(对2kg肝）洗脱过氧化氢酶，离心。用200mLpH8.0磷酸缓冲液，重复洗脱1次。合并洗脱液，加固体硫酸铵（30g/100mL），混合，置冰箱过夜。高速冷冻离心过氧化氢酶，弃去上清液。沉淀与正好足够量的水以混合成粥状悬浮液，装袋对蒸馏水在冰箱透析，换几次蒸馏水。如果有白色或米色沉淀形成，必须离心并弃之。过氧化氢酶从牛肝中制取的一定会结晶。此方法即使从原料少至100g牛肝也会得到满意的结果。

以上两法离心得结晶，用很小量水搅起结晶，加数mL pH7.4～7.8的6～9%磷酸缓冲液，装袋在冰箱对蒸馏水透析。当大部分硫酸铵被透析掉，结晶将溶解。溶液离心以除去可能存在的白色杂蛋白。只要酶液足够浓，进一步透析将得到棱柱体过氧化氢酶沉淀。

为了沉淀片状过氧化氢酶，需要对水透析几天，换几次水。如果酶溶液加磷酸二氢钾至pH5.7，透析将使过氧化氢酶以针状沉淀。

离心，结晶溶于最小量的氯化钠溶液中使最终浓度为10%氯化钠。约需10～20倍沉淀的容积。高速离心以除去杂蛋白，过氧化氢酶对蒸馏水透析24小时使重结晶。结晶以片状出现。如需棱柱体，必须加入0.5mol/L磷酸氢二钠使pH增加至7.0～7.5，再透析。

贮存 结晶可悬浮于水，以0.01%烷基苄二甲基季铵氯化物作稳定剂，以麝香草酚作防腐剂，4℃保存，可稳定12～18个月。部分纯化、冻干粉，约含1/3（重量）的蔗糖。保存于+5℃，可稳定12～18个月。

参考文献

〔1〕 Colowick. S. P. and Kaplan N. O.; "Methods in Enzymology", Vol. Ⅱ., Academic Press, New York, 775, 1955.

纤 维 素 酶

Cellulase(Trichoderma viride)

别名 1,4-[1,3; 1,4]-β-D-Glucan 4-glucanohydrolase

EC 3.2.1.4, endoglucanase; 3.2.1.21 exoglucanase

分子量 52000(endoglucanase); 76000(exoglucanase); 57000(C_1)

酶反应 纤维素酶是一组酶，一同作用以水解纤维素。

单位定义 在37℃，pH5.0，1小时从微晶纤维素释放出0.01mg葡萄糖的酶量为1单位。

理化性质 纤维素酶广泛地分布于生物界，但大多数出自霉和微生物。纤维素酶是糖蛋白，含9.2%碳水化合物。最适pH范围在4.2～5.2，底物不同而有差异。最适温度范围在40～60℃。

抑制剂 纤维二糖、葡萄糖和甲基纤维素为竞争性抑制剂；一些蛋白质试剂如卤素化合物、重金属（Ag^+、Cu^{2+}、Mn^{2+}和Hg^{2+}等）、去垢剂和染料等能使纤维素酶失活；巯基试剂能抑制它，植物体内的某些酚、单宁和花色素是纤维素酶的天然抑制剂。活化剂有氟化钠、Mg^{2+}、氯化钴、Cd^{2+}、磷酸钙和中性盐类。

纤维素酶的测定方法——滤纸崩溃法

200ml三角瓶中加8ml酶液和2ml 0.2mol/L乙酸-乙酸钠缓冲液(pH 4.6)，并放入2张1×1cm新华滤纸，45℃保温，反复震荡（100次/分），每隔一定时间观察滤纸崩坏程度，最后统计滤纸完全消失所需的时间。

制备方法[1] 纤维素酶的生产和其他微生物酶制剂一样，可采用液体浅盘培养和深层培养，固体浅盘培养和厚层通风培养四种方法。我国常用的是厚层通风培养。

绿色木霉QM9414的培养

① 培养基组成：pH 5.5～6.0

	%		g/L		mg/L
纤维素	0.75	$(NH_4)_2SO_4$	1.4	$FeSO_4\cdot 7H_2O$	5.0
蛋白胨	0.075	KH_2PO_4	2.0	$MnSO_4\cdot H_2O$	1.6
吐 温	0.2	尿素	0.3	$ZnSO_4\cdot 7H_2O$	1.4
		$CaCl_2$	0.3	$CoCl_2$	2.0
		$MgSO_4$	0.3		

② 大约滞后二天以后，酶开始出现，同时pH迅速下降，生产最快的时期，pH保持在2.8左右，在纤维素全部耗尽以前的1～2天，pH开始上升。大多数纤维素酶是在pH2.8时产生的。

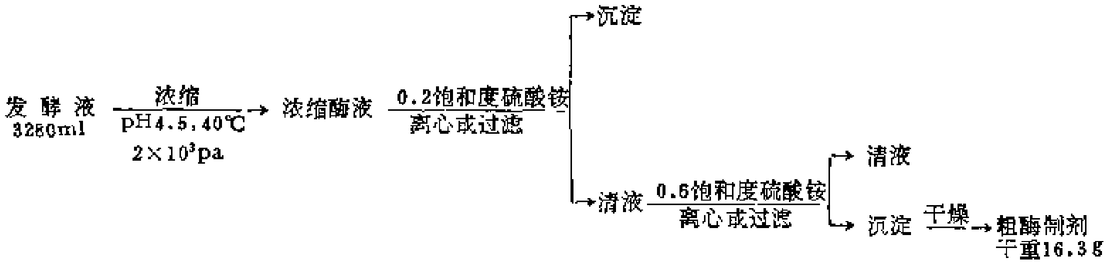
③ 中型试验。一级种子培养基，纤维素0.5%、蛋白胨0.05%，吐温80%，0.2%。其他成分同①。接种孢子悬浮液，30℃往复式摇床培养四天，作种子罐的种子用。

30 L种子罐，装液量22.5 L。培养基同上①不加吐温。121℃灭菌60分钟，接种菌丝体，接种量8.9%；培养温度29～30℃；pH不控制；通气量0.1～0.15vvm，最小溶解氧(DO)水平，饱和度为0.15；K_{La}(最大值)，60mmol O_2/L·h·atm；培养16～25小时。作发酵罐种子用。

400 L发酵罐，装液量287 L。培养基同①。121℃灭菌60分钟；接种菌丝体，接种量7.8%；发酵温度保持在29±1℃；溶解氧保持大于0.15的饱和度；在呼吸速度最高时，采用最大搅拌速度，220转/分时，通气要求是0.05～0.10vvm，产生最大的K_{La}值为60mmol O_2/

L·h·atm。pH值开始时不控制，让其下降，当pH达到预定的最低值后，用2.5mol/L氢氧化钠控制pH值在±0.1单位，发酵后期，让pH上升，直至放罐，最低限pH控制在3.0要比3.5时酶产量高。

纤维素酶的提取（硫酸铵盐析法）



参 考 文 献

〔1〕 张树政："酶制剂工业"，（下册），科学出版社，595～619，1984年。

α-胰凝乳蛋白酶（牛胰） Ⅱ-2(1)-0016

α-Chymotrypsin(bovine pancreas)

别名 α-糜蛋白酶，Chymotrypsin A4

EC 3.4.21.1

分子量 约21600

酶反应 此酶水解蛋白质、多肽、氨基酸的酯和酰胺，特别是在芳族L-氨基酸的羧基，包括酪氨酸、苯丙氨酸和色氨酸的多肽键的水解。此外，它也以高速率催化白氨酸，甲硫氨酸，门冬酰胺，谷氨酰胺残基键的水解。

单位定义 在25℃，pH7.8，1分钟水解1μmol苯甲酰-L-酪氨酸乙酯的酶量为1单位。用上述定义所得45U/mg相当于10000O.D.或1330N.F.U/mg（以乙酰-L-酪氨酸乙酯为底物）。

理化性质 胰脏抽提物含等量酶原的两种型：胰凝乳蛋白酶原A（分子量25000，PI9.1）和胰凝乳蛋白酶原B（pI5.2)。A可以被激活成α-，π-，δ-，β-或γ胰凝乳蛋白酶。

抑制剂 包括天然胰蛋白酶抑制剂，重金属，有机磷化合物，α-氯酮和硫代二苯胺-磺酰氯。

4℃干燥保存，可稳定几年；在pH3.0溶液中稳定数天。

理化参数 $A_{280}^{1\%}$ 20.4。

制备方法[1]

1．酶原的激活 将10g含有硫酸铵的α-胰凝乳蛋白酶原结晶滤饼或5g脱除了盐的酶原结晶混悬于30mL水中，加几滴2.5mol/L硫酸使其溶解，加入10ml 0.5mol/L磷酸盐缓冲液（pH7.6）及相当于所用酸的1mol/L氢氧化钠量，溶液加入0.5mg结晶胰蛋白酶在5℃放置48小时，然后加入0.5mol/L硫酸约5mL调溶液的pH至4.0，加入25g固体硫酸铵，所得沉淀抽滤，滤饼溶于0.75体积的0.005mol/L硫酸中，如溶液不清晰可过滤，滤液或溶液用结晶（菱形）α-胰凝乳蛋白酶作晶种，于20℃放置24小时，应生成约5g结晶滤饼。

2．α-胰凝乳蛋白酶的重结晶 上述滤饼溶解于1.5倍体积的0.005mol/L硫酸中，小心加入约1倍体积的饱和硫酸铵溶液直至结晶开始，置于室温1小时后结晶差不多完成。

3．从乙醇中重结晶　从硫酸铵重结晶2～3次的α-胰凝乳蛋白酶10g。溶解于30mL水中，用缓慢流动的0.0025mol/L硫酸于5℃透析搅拌24小时，已透析的溶液滤清，加水使成50mL，于冰盐浴中冷却至2～3℃，加几滴1mol/L氢氧化钠调pH至约4.8，在搅拌下缓慢地加入冰冷的95%乙醇10ml，同时溶液的温度保持在约5℃，接着用0.5mol/L硫酸将溶液的pH调至4.0，即有大量的无定形沉淀生成。混悬物保持5℃，无定形沉淀缓慢地变成很纯净的针状和玫瑰花形糊状物，用结晶的混悬液1滴作晶种以保证在24小时内迅速结晶，将结晶的糊状物于5℃用硬滤纸抽滤，一般需要滤几小时，将滤饼置表面皿上置冰箱的冷却盘管附近加以干燥，磨成细粉贮存于冰箱中。

参 考 文 献

〔1〕颜凯：(译自Colowick and Kaplan, "Methods in Enzymology", Vol. Ⅱ, 1955; Perlmann and Lorand, "Methods in Enzymology", Vol. XIX, 1970.)生化药物杂志，31，33(1985)。

α-胰凝乳蛋白酶原A(牛胰)　　Ⅱ-2(1)-0017

α-Chymotrypsinogen A(bovine pancreas)

别名　α-糜蛋白酶原A

分子量　约25700

理化性质　是胰凝乳蛋白酶的酶原。

制备方法[1]　牛宰杀后，立即取出胰脏浸入冰冷的0.125 mol/L硫酸中，在0℃保存。沥尽酸液的腺体经去尽脂肪和结缔组织，置绞肉机绞碎。将已绞碎的胰脏混悬于等体积的冰冷水中，在搅拌下将冰冷的0.125mol/L硫酸加入直至混悬液的pH接近3.0，所需用酸的体积通常等于所用水量的一半。混悬液在2～5℃浸取18～20小时后，用粗布压滤，残渣再混悬于一倍体积的冰冷水中，再压滤，弃去滤渣，合并滤液，按每升滤液加入114g固体硫酸铵使饱和度达0.2，生成的沉淀借助硅藻土（20g/L）冷室内过滤，滤饼弃去，清晰的滤液按每L加入121g硫酸铵使饱和度达0.4，借助硅藻土（3g/L）通过双层滤纸在冷室过滤，滤饼（含脱氧核糖核酸酶）可留作纯化DNA酶的起始原料。

上述滤液加硫酸铵（205g/L）饱和度达0.7，生成的沉淀在5℃沉降并在此温度过滤，得潮湿的滤饼约100g（以绞碎牛胰3L计），滤液保存制备核糖核酸酶用。

每100g上述滤饼溶解于300mL水中，加入在20～25℃配制的饱和硫酸铵溶液200mL（从这时起所有操作，除另有规定外，都在室温20～25℃下进行）。生成的沉淀加5g硅藻土助滤，滤液缓慢地加入硫酸铵（205g/L），用硬滤纸抽滤，得粗酶原约90g。

1．α-胰凝乳蛋白酶原的初步结晶　上述粗酶原每100g溶解于150mL水中，加50mL饱和硫酸铵溶液并滴加5mol/L氢氧化钠调pH至5.0（每100g沉淀约加2mL碱液），溶液在20～25℃放置2天，即有针状的胰凝乳蛋白酶原结晶逐渐生成，用硬滤纸过滤，得滤饼约25g。滤液可用于制备胰蛋白酶原或胰蛋白酶和胰蛋白酶抑制剂。

2．从硫酸铵中重结晶　将上述结晶滤饼混悬于3倍体积水中，在搅拌下用滴定管加入2.5mol/L硫酸直至沉淀溶解，加入1倍滤饼体积的饱和硫酸铵溶液使饱和度达0.25，在搅拌中加入相当于所用酸的2.5mol/L氢氧化钠液量，将溶液接种并在20℃放置，结晶过程实际上应在1小时完成。收率80%。

3．从乙醇中重结晶　用硫酸铵重结晶几次的α-胰凝乳蛋白酶原半干的结晶10g，用约

30ml水搅拌，加几滴2.5mol/L硫酸溶解。将此溶液对流动蒸馏水搅拌透析（5℃)24小时。已透析溶液，滤清加水成50mL，用稀酸或碱调pH至4.0，置冰盐浴中冷却至1～3℃，在搅拌下缓慢加入冰冷的95%乙醇12.5mL，加的过程中，溶液温度不大于5℃，接着将溶液的pH用1mol/L氢氧化钠调至5.0左右（在乙醇加入过程中溶液通常形成胶体，在加入氢氧化钠时胶体变成了无定形沉淀）（用0.01%甲基红溶液作指示剂，在试验平板上和0.01mol/L乙酸盐缓冲液作标准），大量的无定形沉淀形成，混悬物保持在20～25℃，沉淀逐渐溶解并在几小时内形成大量的大晶体，结晶过程通常在24小时内完成。用硬滤纸抽滤结晶，用冰冷丙酮洗，室温干燥24小时，收率80%，干燥了的酶原磨碎贮存于冰箱中。

参考文献

〔1〕 颜凯：（泽自Colowick and Kaplan:"Methods in Enzymology,"Vol. Ⅱ, 1955.; Perlmann and Lorand: "Methods in Enzymology", Vol. XIX, 1970.）生化药物杂志，31，32～33，1985。

磷酸肌酸激酶 Ⅱ-2(1)-0018

Creatine Phosphokinase

别名 CPK; ATP: Creatine N-phosphotransferase; Creatine kinase; CK; Phosphocreatine phosphokinase.

EC 2.7.3.2

分子量 约81000(兔肌)

酶反应 ATP＋肌酸⇌ADP＋磷酸肌酸

单位定义 在25℃，pH8.9，1分钟转变1μmol肌酸为磷酸肌酸的酶量为1单位。

理化性质 此酶为二聚体。

抑制剂 各种巯基试剂，螯合剂，一些AMP化合物，正磷酸，焦磷酸，三聚磷酸，腺苷，Cl^-，SO_4^{2-}和其他化合物，如：二苯胺吩噻嗪酮和3,5-二硝基邻甲酚。ADP强烈地抑制正反应对ATP是竞争性抑制，而对肌酸则非竞争性抑制。磷酸肌酸酐对磷酸肌酸作为竞争性抑制剂。

稳定剂 还原剂如半胱氨酸和巯基乙酸。

稳定性 ＋4℃干燥保存，6个月内活力下降约15%。

理化参数 $A_{280}^{1\%}$ 8.76。

制备方法[1] A法比较费时，但在结晶前已具较高纯度，B法的优点是快速，产率比A法高，但如无晶种则较难结晶。最好用A法制得结晶，用所得结晶作晶种用B法制备大批量的酶。

一、A法

匀浆的制备——杀兔后立即割取背脊肉和腿肉埋入冰中。用预冷的绞肉机绞碎后，每1kg磨碎组织与4L0.01mol/L氯化钾在捣碎机内打成匀浆。

1．**热处理** 匀浆放入搪瓷容器内浸入沸水浴中并有效地搅拌直至温度上升至39.5℃。容器移入至40±0.5℃水浴内，继续搅拌15分钟。容器在－10℃浴内冷却，容器内继续搅拌直至温度为约±5℃。在一冷室内稠悬浮液分小批通过4层纱布用手挤滤，浑浊滤液离心(1000×g，1小时，0℃)。上清液（Ⅰ部分）用纱布过滤，以除去脂肪层。

2．第一次乙醇分级 Ⅰ部分用固体乙酸镁使溶液乙酸镁浓度达0.1mol/L．用1mol/L

氢氧化钠调pH至6.5。溶液置 - 10℃浴内冷却至约0℃，在机械搅拌下以100mL/min的速度加入0.25倍的预冷至 - 10℃的95%乙醇。让温度降至 - 9℃，以同样速度加入95%乙醇直至浓度为52%(乙醇浓度以容积%表示，假设容积是相加的)。混合物搅拌1小时，离心(1000×g，30分钟，0℃)。上清液移回 - 10℃浴，同前加入乙醇至最终浓度为67%。经 - 10℃ 1小时后，悬浮液同前步离心，沉淀溶于0.01mol/L碳酸氢钠中，使其最终容积为I部分的15%。经在3℃对0.01mol/L碳酸氢钠（换2次，每次20倍容积）透析20小时后，不溶性蛋白离心分离，上清液为Ⅱ部分。

3．除去变性蛋白　Ⅱ部分用1mol/L氢氧化钠调至pH8.5，在有效的搅拌下快速加入冷95%乙醇至浓度为60%。经在20±0.5℃保持4小时后，变性蛋白，离心（1000×g，30分钟，20℃）使沉下，上清液为Ⅲ部分。

4．硫酸镁抽提　Ⅲ部分加入用2mol/L氢氧化钠调pH至8.7的2mol/L硫酸镁溶液，使硫酸镁浓度成0.03mol/L。加入乙醇使其浓度重新达到60%。在20℃搅拌0.5小时后，离心收集沉淀。沉淀在pH9，0℃用0.07mol/L硫酸镁抽提两次（第一次用I部分容积的3%，第二次用2%），并离心（2000×g，15分钟，0℃）。合并抽提液，在pH9，3℃对60倍容积氨溶液透析（有效的搅拌）。在24～36小时内换3次溶液。少量的悬浮固体过滤除去。

5．第二次乙醇分级　Ⅳ部分加入2mol乙酸锰（pH6）使溶液乙酸锰浓度成0.1mol/L。加入0.25mol/L组氨酸盐酸盐，用氢氧化钠调至pH7.1使组氨酸浓度成0.0054mol/L。最后pH应为约6.7。在0℃下以有效的机械搅拌下，以10mL/min的速度加入乙醇至浓度为56.6%。混合物维持0℃搅拌1小时，离心（2000×g，15分钟）。乙醇加到上清液内至最终浓度为65%（以Ⅳ部分为基础计算）。混合物在搅拌下维持0℃，沉淀同前步收集。为了分级的目的，乙醇按沉淀重量的65%估计。

沉淀溶于0.005mol/L组氨酸盐酸盐（pH9.5)(当加完后最终容积为I部分的4.0～4.5%）。少量不溶物离心除去。上清液加入2mol/L氯化钠，不考虑中和组氨酸缓冲液时，所引入的氯化钠，使溶液氯化钠的浓度成0.02mol/L，加入0.5mol/L乙酸锌（pH6）使乙酸锌浓度成0.005mol/L，最终pH用少量1mol/L氢氧化钠调节至7.0（通过毛细管吸管在搅拌下慢慢加入以避免氢氧化锌沉淀）。加入乙醇（0℃）至浓度为36%（原来从乙酸锰-乙醇一步沉淀所引入的乙醇量要考虑在内）。在0℃下搅拌1小时后，沉淀离心，并重新溶解于冷的0.05mol/L柠檬酸铵，pH 9.0(最终容积为I部分的1.5～2.0%)。溶液在3℃对1 L 0.05mol/L柠檬酸铵搅拌下透析5～6小时，然后，在3℃对14L 1.7×10^{-3}mol/L氢氧化铵透析36小时（换2次）。透析袋内痕量沉淀离心，得清无色溶液。制剂纯度在此阶段通常为85～98%(46～52U/mg)，产率为45～70%。如果需要冷冻干燥，应该用0.01mol/L甘氨酸-氢氧化钠缓冲液，pH9.0代替弱氨水溶液透析。冻干粉冷藏保存相当稳定。

6．结晶　上述溶液用1.7×10^{-3}mol/L氢氧化铵稀释至蛋白浓度为20～30 mg/mL。在0℃，有效的搅拌下慢慢使乙醇浓度达56%。加入5mol/L氢氧化铵使氢氧化铵的最终浓度达3×10^{-3}mol/L。溶液置小三角烧瓶内盖以Parafilm，并在 - 10℃放置，不时打开盖子并摇荡瓶子。由于吸收二氧化碳，诱发了结晶。可是，如果氨水浓度下降太多，很多无定形沉淀将会形成，可加入痕量的5mol/L氢氧化铵重新溶解。有时少量无定形变性蛋白产生，必需在结晶出现前离心除去。如不加晶种，出现结晶需两周。蛋白以大量的巨大长针状结晶出现，用肉眼也能观察到。晶种可保存于含氨的乙醇中（塞紧），在 - 10℃能保存3个月，过后它们会变形。

7．重结晶　离心收集结晶（2000×g，1小时，或在15000×g，0.5小时），用含0.003 mol/L氢氧化铵的60%乙醇（容积等于V部分）在－10℃洗涤，重新同前离心。结晶溶于0.003mol/L氢氧化铵（其量可用V部分容积的70%）。任何不溶物离心分离，加入乙醇至56%和氢氧化铵至3×10^{-3}mol/L（考虑沉淀中含乙醇为60%以及溶解时所用氢氧化铵的量）。－10℃重结晶可用第一批结晶作晶种以加速之。

待结晶完全后，收集结晶，洗涤，溶于0.01mol/L甘氨酸中（pH9.0）并在3℃对同一缓冲液透析。蛋白溶液在浓溶液（3～5%）中冰箱放置数周是稳定的。如果需要，可冷冻干燥或置－10℃保存；5%蛋白溶液在此温度并不结冻。产率40～60%（从Ⅰ部分计）。每kg兔肌约得结晶为1.5g。提纯倍数11～18倍。比活50～54U/mg。

二、B法

1．氯化钾匀浆　按一法除了碎肌肉每批1kg和2L0.01mol/L氯化钾捣匀浆3分钟。代替热处理的是稠的匀浆在冰室内温和地搅拌15分钟再经纱布挤滤。

2．除去变性蛋白　加入固体氯化铵至Ⅰ部分中，使浓度达0.10mol/L，用5mol/L氢氧化铵调至pH9.0。在冰浴中搅拌0.5小时后（主要是无机盐磷酸镁铵沉淀），加入1.5倍容积冷乙醇。在20℃搅拌2.5小时后，变性蛋白和盐离心除去（1000×g，0.5小时），保留浅黄上清液。

3．乙酸镁抽提　在搅拌下，加入2.0mol/L硫酸镁（pH8.5）至最终浓度为0.03mol/L，并加入冷95%乙醇（1.5×所用2mol/L硫酸镁的容积）。在20℃搅拌0.5小时后，离心收集沉淀。沉淀2次重新充分悬浮于0.07mol/L乙酸镁溶液中（pH9.0）并在0℃抽提，第一次容积为Ⅰ部分容积的6%，第二次为4%。每次不溶部分离心（2000×g，20分钟）分离。所用以抽提的0.07mol/L乙酸镁准确容积以及合并抽提液的准确容积要记下以便计算抽提液中乙醇的量。

磷酸肌酸激酶（制自1.0kg兔肌肉）

部分	总蛋白，mg	总活力，U	比活U/mg	纯化倍数	产　率
一、A法					
Ⅰ	42900	(207000)	(4.8)	(1.0)	(100)
Ⅱ	10060	183400	18.2	3.79	88.8
Ⅲ	4890	152400	31.2	6.51	73.8
Ⅳ	2870	113000	39.5	8.23	54.6
Ⅴ	1990	95800	48.2	10.1	46.3
结晶	1680	89100	53	11.1	43.1
重结晶	1535	82800	54	11.2	40.0
二、B法					
Ⅰ	40000	(189000)	(4.73)	(1.0)	(100)
Ⅱ	9050	179000	19.8	4.18	94.7
Ⅲ	3250	143000	44.0	9.31	75.7
Ⅳ	2970	138000	46.5	9.84	73.1
结晶	2480	129000	52.0	11.0	68.2
重结晶	2150	112500	52.3	11.1	59.5

4. 乙醇分级　在搅拌下，把冷乙醇慢慢加到Ⅲ部分至36%。0℃放置0.5小时后，沉淀离心（2000×g，20分钟）除去。乙醇加到清液中至最终浓度为50%。在0℃0.5小时后，收集沉淀。沉淀溶于30～50mL0.05mol/L柠檬酸铵溶液中（pH9中）。

5. 结晶　同一、法透析和结晶、重结晶。重结晶的酶制剂总产率55～80%，最后比活50～54U/mg。至Ⅳ部分的产率为70～95%，比活45～50U/mg。

一、法比较费时，但在结晶前已具较高纯度；二、法的优点是快速，产率比一、法高，但如无晶种则较难结晶。最好用一、法制得结晶，用所得结晶作晶种用二、法制备大批量的酶。

参 考 文 献

〔1〕 Kuby S. A., Noda L., and Lardy H. A.: J. Biol. Chem. 209, 191(1954).

细胞色素C　　Ⅱ-2(1)-0019

Cytochrome C

分子量　12000（马心）

理化性质　含铁量，一般制剂为0.34%，纯化后可达0.45%。超离心是均一的，在弱碱情况下，电泳是均一的。细胞色素C是很强的碱性多聚电解质。

理化参数　pI 10以上。吸光率比$\frac{A_{550nm}}{A_{278nm}}$1.28。

制备方法[1]

1. 阳离子交换树脂的准备　100g Amberlite IRC-50与300mL 2mol/L盐酸加热至约60℃，倾泌去盐酸，再在粗砂芯漏斗上用2.5L去离子水或玻璃蒸馏水洗涤。树脂换2～3次（每次200mL）2mol/L氢氧化铵加热至60℃，直至上清液为强碱性，先倾泌掉碱，再在砂芯漏斗上用3～4L去离子水洗涤。重复用盐酸-氨水处理。用2～3次300mL 2mol/L盐酸洗涤，因为树脂是以H^+型供应的。

NH_4^+型树脂用手在大研砵中，有过量2mol/L氢氧化铵存在（液面以高于树脂5cm为宜）下研细。每研4～5分钟后，准确地沉15秒并倾去上清液。反复研磨与倾泌，经常保留过量氨水在上清液中，直至所有树脂被倾泌出。整批树脂再次重复15秒沉下2～3次以除去漏研的粗颗粒。树脂悬浮于1L水中，让它沉降正好5分钟，倾泌掉（弃去）太细的颗粒。重复5分钟沉降6～8次。树脂在15秒～5分钟之间沉降者收集在砂芯漏斗上，充分地用去离于水洗涤，抽干，在室温下用滤纸夹于直至不再有氨味为止（也可用空气流在滤纸上吹过以减少所需的时间）。

最后颗粒大小应为100～150目，产量30～50g。也可用捣碎机代替研砵。

2. 柱的准备　准备好的树脂（NH_4型）悬浮于最小量的水中，注入柱内。柱用约2L去离子水洗涤，采用稍稍正压力（调节柱上瓶子的高度）。3×35cm的柱（55g吸附剂，干的经潮后膨胀到原来容积的一倍）足以纯化100～120μmol细胞色素C，而一根较小的，1.5×15

cm，是用来浓缩稀流出液。

3．纯化步骤 200mL（相当于120μmol细胞色素C铁）马心细胞色素C，含铁0.34%，对流动自来水透析过夜。注入洗好的Amberlite IRC-50铵盐柱（3×35cm）内，细胞色素C都被吸附后，柱用2L玻璃蒸馏水洗涤，流出的棕色的不含细胞色素部分弃之。吸附的细胞色素C用0.12mol/L乙酸铵（A.R.）洗涤，流速4～5mL/min，直至细胞色素C区带往柱下移动，并且还原细胞色素C，开始在流出液出现（通常需要4～7L洗涤液）。

天然的细胞色素C用0.25mol/L乙酸铵从柱中洗脱出，如果溶液流速为1～2mL/min，柱峰Ⅰ（天然、有全部酶活性的蛋白）能全部收集在1.5～2L流出液内。

仍然留在柱顶部的细胞色素C是Ⅱ部分，没有酶活力。它可用0.5mol/L氢氧化铵洗出，通常是弃去，因为它对酶研究是无用的。天然细胞色素C在4℃对玻璃蒸馏水透析2天（按4～5次水）。为了浓缩此溶液，把它通过上述小柱（1.5×15cm）。当所有细胞色素C被吸附，用500mL玻璃蒸馏水洗涤，然后快速地用0.5mol/L氢氧化铵洗脱。氢氧化铵溶液先以快速（4～5mL/min）通过，直至细胞色素C往柱下移动，带变宽。洗脱的流速减慢至0.2～0.3mL/min使细胞色素C区带再缩窄，蛋白能收集在最小容积的洗出液中。细胞色素C溶液对玻璃蒸馏水透析2～3天，换4～6次水。

小心操作浓缩步骤，最后溶液浓度可得12×10⁻⁴mol/L。蛋白质可以冻结状保存在-15℃，在4℃以三氯甲烷饱和或冷冻干燥。在一些酶工作中，当必需保证不含痕量NH_4^+时，最有效的方法是在硫酸上冷冻干燥。

柱使用过后，按顺序地用2mol/L氢氧化铵、水、2mol/L盐酸、水、2mol/L氢氧化铵和水洗涤（酸、水洗过后，最好塞紧柱口、倒过来用氢氧化铵以搅动树脂。树脂从NH_4型变成H型时，容积收缩一半；而由H型变成NH_4型时它又膨胀，并成为一紧紧装实的柱，致使通过柱的流通几乎停止）。最后用水洗涤直至流出液pH为9～9.5。存在柱中的氢氧化铵浓度太低，不致于干扰细胞色素C吸附上树脂。

贮存 冻干粉干燥保存于-20℃。

参考文献

〔1〕 Shemin D.: "Biochemical Preparations", Vol 5, John Wiley and Sons, Inc., New York; Chapman and Hall, Limited, London, 33～39, 1957.

脱氧核糖核酸酶Ⅰ（牛胰） Ⅱ-2(1)-0020

Deoxyribonuclease Ⅰ

别名 DN ase-Ⅰ；Deoxyribonucleate 5′-oligonucleotido hydrolase

EC 3.1.21.1

分子量 约31000

酶反应 DNA酶Ⅰ作用于单链DNA和双股DNA和染色质。它是核酸内切酶裂解邻近嘧啶核苷酸的磷酸二酯键，产生5′-末端磷酸多聚核苷酸（在3′-带有羟基）。限制消化的平均链长为四核苷酸。

单位定义 在25℃作用于高度聚合的DNA，pH 5.0，1分钟引起260 nm光吸收每毫升增加0.001的酶量为一单位。

理化性质 牛胰有DNA酶A和其DNA酶B, C和D。它们是糖蛋白，彼此间在糖侧链或多肽

组成上有差异。DNA酶A是主要的形式。

激活剂　可用二价金属离子，最大激活可以从Mg^{2+}和Ca^{2+}得到。

抑制剂　有EDTA；SDS。

稳定剂　DNA酶Ⅰ最可能污染的是糜蛋白酶B。可加5mmol/L Ca^{2+}或二异丙基氟磷酸（DFP）对抗蛋白水解酶的消化以稳定之。

理化参数　最适pH7.8。$A_{280}^{1\%}$ 11.1。

制备方法[1]

1．初步纯化　将在α-胰凝乳蛋白酶原的制备中，0.4饱和度硫酸铵分离所得滤饼，混悬于5倍滤饼重的水中，按所用水每升加入176g硫酸铵使混悬液达0.3饱和度，过滤，滤液弃去。

2．硫酸铵分级　滤饼混悬于10倍（重量）水中，按所用水每立升加硫酸铵83.7g使混悬液达0.15饱和度，溶液按每升用2.5mol/L硫酸2mL左右调至pH3.2（玻璃电极），热至37℃并在此温度停留1小时，冷却至20℃并按每升混悬液用5g硅藻土助滤，残渣弃去。滤液用2.5mol/L氢氧化钠（每升滤液约需2mL）调至pH5.3（玻璃电极），并按每升滤液加入220g硫酸铵使达0.5饱和度，生成的沉淀称“0.5沉淀”，按每升溶液加5g硅藻土助滤得“0.5沉淀”，清晰的滤液加几滴2.5mol/L硫酸调pH至4.0，并按每升滤液加入135g硫酸铵使达0.7饱和度，生成的沉淀称“0.7沉淀”，按每升滤液加2g硅藻土助滤收集沉淀，滤液弃去。

将“0.5沉淀”再混悬于10倍（重量）水中，重复2几次直至没有明显的“0.7沉淀”生成为止。

将全部“0.7沉淀”合并并混悬于10倍（重量）水中，过滤，残渣用水洗直至洗液呈水一样清晰为止。

3．乙醇分级　合并上述滤液和洗液，用水稀释至近似1%蛋白质的浓度（蛋白质的近似浓度可以用分光光度计于280nm处加以测定，光密度为1.2/mg蛋白质/mL），溶液用2.5mol/L硫酸调pH至3.8，溶液按每100mL加入饱和硫酸铵溶液2mL．将此混合液置冰盐浴中冷却至2℃，在搅拌中缓慢加入1/4溶液体积的冰冷95%乙醇，加时保持溶液温度在2℃和5℃之间，混合物于2～5℃放置24小时，接着在同样温度离心，残渣弃去。清晰的上清液置－10℃24小时，然后在－10℃离心，上清液弃去。

4．结晶　沉淀溶解于10倍（体积）的冰冷水中，按溶液每100mL加入饱和硫酸铵溶液60mL使达0.38饱和度，生成的沉淀在5～10℃用硬滤纸抽滤，所得沉淀混悬于3倍（重量）的冰冷水中缓慢滴加几滴0.25mol/L氢氧化钠使溶解，保持溶液的pH在4.8以下。如果溶液浑浊则于5℃左右离心，接着用几滴0.1mol/L硫酸调pH至2.8（玻璃电极）。大量的沉淀通常在接近pH3.5生成，容易溶解在pH3.0或低些的溶液中。把清晰的溶液置5℃过夜，接着放在接近20℃，6～8小时，此时出现结晶。

将上述结晶的混悬物离心，残留物混悬于近似3倍体积的0.02饱和度硫酸铵溶液中，加几滴0.2mol/L氢氧化钠使pH约4.6促进溶解，溶液如浑浊则将其离心，清液调pH至2.8（玻璃电极），放置在20℃，1小时内则有DNA酶的结晶生或。用硬滤纸在5℃抽滤，依次用冰冷酸性的30%乙醇（每100mL加1滴2.5mol/L硫酸），冰冷丙酮洗涤，室温干燥几个小时。

在4.和5.中的母液按如下处理，可以另外收得部分结晶　将母液用3倍冰冷水稀释，用0.2mol/L氢氧化钠调pH至4.6，如有任何不溶物生成时离心除去。将上清液用0.1mol/L硫酸调pH至4.0．接着按4.所描述的使产生0.38硫酸铵饱和度起做完每个细节。

贮存 +4℃干燥保存。

参 考 文 献

〔1〕 Colowick S. P. and Kaplan N. O.: "Methods in Enzymology", Vol. Ⅱ, Academic Press, New York and London, 437, 1955.

脱氧核糖核酸酶Ⅰ（猪脾） Ⅱ-2(1)-0021

Deoxyribonuclease Ⅱ

别名 DNA酶Ⅱ；DN ase-Ⅱ；Deoxyribonucleate 3′-oligonucleotidohydrolase

EC 3.1.22.1

分子量 3.8×10^4（沉降-扩散法）；4.1×10^4（沉降平衡法）

酶反应 天然或变性DNA⟶3′-核苷酸

单位定义 在25℃，pH4.6，以高聚DNA作底物，1分钟引起260 nm光吸收增加0.001/mL的酶量为1单位。

理化性质 此酶是具二聚体结构的糖蛋白。

抑制剂 为SO_4^{2-}，碘代乙酸，*N*-溴代琥珀酰亚胺和H_2O_2。但二异丙基氟磷酸（DFP）不抑制。

理化参数 f/f_0 1.34；$A_{280}^{1\%1cm}$ 12.1。pI 10.2。最适pH为4.5～5.0（离子强度为0.15）。

制备方法[1] 猪脾修剪好，绞肉机绞碎，用0.05mol/L硫酸使成匀浆。用0.1mol/L硫酸酸化至pH2.5后，离心。上清液用硫酸铵分级提纯，取40～80%硫酸铵饱和度部分。最后沉淀对0.05mol/L磷酸缓冲液（pH6.8）透析，离心使清。粗酶溶液依次通过三个层析步骤：DEAE-Sephadex，羟基磷灰石和CM-Sephadex。酶从最后柱上洗脱下来成二个活力峰，第一组分占总活力的20%弱。

这两个组分分别再上CM-Sephadex柱层析，对0.001mol/L乙酸缓冲液(pH5.0)透析，冷冻干燥浓缩至浓度约为1%，然后冷冻保存于－15℃。

用上述方法制得的猪脾酸性DNA酶完全不含杂质磷酸酯酶、核酸外切酶和腺嘌呤脱氢酶活力。此酶对双对硝基苯磷酸和3′-脱氧核苷酸的对硝基苯酯有弱的内在的水解活力。

贮存 －15℃。

参 考 文 献

〔1〕 Bernardi G., Bernardi A. and Chersi A. *Biochim Biophys. Acta* 129, 1(1966).

脱氧核糖核酸聚合酶 Ⅱ-2(1)-0022

（T_4噬菌体感染的*E. coli*）

Deoxyribonucleic acid polymerase

别名 Deoxynucleoside triphosphate; DNA-deoxynucleotidyltransferase; DNA polymerase

EC 2.7.7.7

分子量 112000（噬菌体酶）；109000（宿主E. coli）

单位定义 以变性脱氧核糖核酸为模板，在37℃，30分钟内，1单位参入10nmol的总核苷

酸成为一酸可沉淀的产物。

理化性质 此酶含有一个双硫键和一个巯基。最适pH7.4。

激活剂 活力需要一个二价的阳离子。Mg^{2+}在7mmol/L时得到最适活力。Mn^{2+}能局部满足金属离子的要求。酶活力也受一价阳离子如K^+，Rb^+，Cs^+和NH_4^+的影响。

抑制剂 多色霉素A（plurmycin A），新霉素、干乍那霉素（kanchanomycin）、丝裂霉素、博莱霉素、腐草霉素、氨茴霉素双脱氧核苷（anthramycin dideoxynucleoside）和阿拉伯糖酰核苷三磷酸、dUTP、和以5′-OH或NH_2取代的UR和dUR类似物。酶溶液含200mmol/L磷酸钾（pH7.3）、1mmol/L二巯基苏糖醇（DTT）和50%甘油。

理化参数 $A_{280}^{1\%}$ 8.5；A_{280}/A_{250} 1.81。

制备方法[1] 先作酶的纯化。除注明外，所有操作都在0～4℃进行。离心条件为15000×g，15分钟。

酶的纯化

部分	活力 U×10⁻⁵	蛋白质 mg/mL	比活 U/mg	总产率 %
抽提液	30	162	78	100
链霉素	38	148	200	127
自溶	26	31	370	87
硫酸铵	20	29.5	530	67
磷酸纤维素	11	0.33	15300	37
DEAE-纤维素	7.3	0.67	33000	24
羟基磷灰石	1.2	0.86	31000	8

1. 抽提液 E. coli B细胞从1%接种物生长至100L罐中，37℃，通气。每L培养基含下列物质：磷酸氢二钾13.2g；磷酸二氢钾3.26g；酪蛋白水解氨基酸（Difco Casamino acids）10g；DL-色氨酸0.1g；半胱氨酸盐酸盐0.13g；硫酸铵2.6g；硫酸镁0.25g；葡萄糖10g；硫酸铵铁0.4mg。在O.D.$_{590}$=1.0时，培养基用T_4am. N82感染（3×10¹²/L，增殖率为4）。保温75分钟后，培养基速冷，离心收集细胞浆，并保存于-20℃直至下一步骤。

合并从二次100L培养基中所得细胞浆552g。用玻璃珠在双甘氨肽缓冲液（0.05mol/L，pH7.0）-2mmol/L EDTA-2mmol/L还原型谷胱甘肽中混和。离心，得2300mL抽提液（Ⅰ部分）。

2. 链霉素沉淀 在搅拌下加入5100mL 2mmol/L还原谷胱甘肽-2mmol/L EDTA至Ⅰ部分。30分钟后再加入2200mL 5%硫酸链霉素。搅拌20分钟后，离心收集沉淀。将沉淀悬浮于1290mL含2mmol/L还原谷胱甘肽的磷酸钾缓冲液（0.05mol/L，pH7.0）中（Ⅱ部分）。

3. 自溶 Ⅱ部分使含氯化镁的浓度为3mmol/L，在37℃保温直至95%紫外吸收物在260nm成为酸溶性（约90分钟）。自溶液快速冷却至0℃，离心收集上清液（Ⅲ部分）。

4. 硫酸铵分级 在搅拌下加218g硫酸铵至1L的Ⅲ部分，隔30分钟再搅拌30分钟后，离心除去沉淀。同前步骤对每立升上清液再加78g硫酸铵。收集沉淀，并溶于含2mmol/L EDTA和2mmol/L还原谷胱甘肽的120mL磷酸钾缓冲液（0.05mol/L，pH7.4）中。此溶液注入Sephadex G-25柱中，柱（20cm²×50cm）预先用磷酸钾缓冲液（0.05mol/L，pH6.5）和0.01mol/L 2-巯基乙醇平衡。并再用同样缓冲液流过。合并有活力部分（Ⅳ部分）。

5. 磷酸纤维素层析 Ⅳ部分注入磷酸纤维素柱（10cm²×20cm），柱预先用磷酸钾缓冲液（0.05mol/L，pH6.5）和0.01mol/L 2-巯基乙醇平衡。随后，用0.05mol/L和0.4

mol/L之间线性梯度含0.01mol/L2-巯基乙醇的3L磷酸钾缓冲液（pH6.5）洗脱。流速为2.5mL/min，收集每份40mL。酶活力峰在梯度溶液流过约2L后出来。合并比活在12000以上部分（V部分）。

6. DEAE-纤维素层析 将V部分对固体蔗糖透析使容积从220mL减至约20mL；如有需要换用干蔗糖。样品对磷酸钾（0.02mol/L，pH7.4）和0.01mol/L 2-巯基乙醇透析，并注入DEAE-纤维素柱（1.6cm²×25cm），柱预先以同样缓冲液平衡。采用（0.02～0.15mol/L之间的线性梯度洗脱〔800mL含0.01mol/L 2-巯基乙醇的磷酸钾缓冲液（pH6.3)〕。流速0.6mL/min，每份收集5mL，蛋白质和聚合酶活力峰在梯度溶液流过约300mL后出现。合并活性部分，真空超滤浓缩，对0.1mol/L Tris-HCl缓冲液(pH7.5)和1mmol/L还原谷胱甘肽透析（Ⅵ部分）。

Ⅵ部分保存于液氮中10个月后保留原来活力的84%。

7. 羟基磷灰石层析 Ⅵ部分（15.8mL）从液氮保存器中取出，用等容积的0.02mol/L 2-巯基乙醇稀释，并用含0.01mol/L 2-巯基乙醇的0.05mol/L磷酸二氢钾调pH至6.5。稀释酶液注入羟基磷灰石柱（4.5cm²×15cm），柱预先用2500mL 0.05mol/L磷酸钾缓冲液（pH6.5）和0.01mol/L 2-巯基乙醇洗涤。再用100mL同样缓冲液洗之。然后用0.05～0.3mol/L的线性梯度的1500mL含0.01mol/L 2-巯基乙醇的磷酸钾（pH6.5）洗脱。流速0.8mL/min。蛋白质和酶活在梯度当中呈单峰出现。每毫升含300U以上的管子合并，对固体蔗糖透析浓缩，并彻底地对50%甘油-含0.01mol/L 2-巯基乙醇的0.2mol/L磷酸钾（pH6.5）透析（Ⅶ部分）。Ⅶ部分的蛋白浓度为0.86mg/mL。当保存于－20℃10个月后，仍保留全部活力。

参考文献

〔1〕 Goulian M., Lucas Z. J. and Kornberg A.: J. B. C., 243,627(1968).

心肌黄酶（猪心） Ⅱ-2(1)-0023

Diaphorase

别名 硫辛酰胺脱氢酶Lipoyl dehydrogenase；黄透酶；NADH：lipoamide oxido-reductase

EC 1.6.4.3

分子量 24000

酶反应 $NADH + A + H^+ \longrightarrow NAD^+ + AH_2$

单位定义 在25℃，pH8.5，1分钟还原1μmol 2,6-二氯酚靛酚的酶量为1单位。

理化性质 纯化的酶为黄绿色有荧光的黄素蛋白。酶含FMN 1分子/1酶分子。最适pH8.5。在pH7.4和9.4，活力下降50%。以NADH和NADPH为反应物时，其最适pH都相同。

抑制剂 为*N*-乙基顺丁烯二酰亚胺。

稳定剂有NADH，NADPH和FMN保护酶免受尿素和胍的变性。

理化参数 $K_{m(NADH)}=9\times10^{-5}$，$K_{m(NADPH)}$更低。

制备方法[1]

1. 匀浆的制备 数颗猪心除尽结缔组织和脂肪后，用电动绞肉机（细孔）绞成肉末。

用15～20倍冷冻自来水洗3次。每次洗涤时，肉末剧烈机械搅拌20分钟以维持悬浮状。大部分的水通过纱布挤掉，1660g洗涤过的肉末悬浮于2.5L 0.02mol/L磷酸氢二钠中，并在捣碎机中捣90秒。

2. 在pH4.6下沉淀　匀浆悬浮于2.5L去离子水中，搅拌，并离心（2000×g,20分钟）。然后4.7L上清液与118mL 1mol/L乙酸缓冲液（pH4.6）(0.5mol乙酸钠和0.5mol乙酸加水至1.0L）混合，离心(2000×g，30分钟)。

3. 乙醇抽提　残留物悬浮于下列溶液中：33g硫酸铵和50mL绝对乙醇加到1660mL去离子水。置水浴中使混合物温度上升至43℃，并维持12分钟。离心(2000×g，30分钟)，保留黄色不透明的上清液。

4. 用氢氧化铝凝胶处理　搅拌加入45mL氢氧化铝凝胶 C_γ（干重 20～25mg/mL）至1370mL上清液中。放置30分钟后，混合物离心，其速度足以使凝胶装好，凝胶和上清液都要。上清液再加入22g凝胶，再离心。合并2次凝胶残留物，用0.2mol/L磷酸氢二钠洗脱，每次50 mL直至洗出物无色为止。合并洗脱物（240 mL)，在冷室中，以流动去离子水透析直至除尽盐。

5. 热处理和第一次硫酸铵分级　如果透析时有沉淀形成，可以加硫酸铵（2.8g/280 mL透析物）使溶。溶液置水浴中使温度上升至60℃，并维持5分钟。溶液冷却并离心，弃去沉淀。76g固体硫酸铵加到溶液中，在0℃放置1小时。离心，弃去沉淀，溶液中再加71g固体硫酸铵。混合物高速离心或过滤，弃去上清液。沉淀溶于30mL蒸馏水中。

6. 透析变性　溶液对1.5L蒸馏水透析过夜，形成的沉淀弃去。继续透析直至除尽盐。此时形成的沉淀含有酶，溶于0.02mol/L磷酸缓冲液（pH7.5）中。此时制剂的纯度对许多工作已可使用。

7. 第二次热处理和硫酸铵分级　第6步最后的悬浮液滴加0.1%氢氧化铵使溶，溶液加热至62～65℃并维持5分钟。离心除去残渣，10.9g硫酸铵加入35mL溶液中，混合物再离心。弃去沉淀，加硫酸铵（4g/40mL上清液）至清液。黄色沉淀过滤或高速离心收集，并溶于蒸馏水中。溶液8 mL对蒸馏水充分透析，弃去首先出现的黄色沉淀。溶液中加入0.5mL 0.1mol/L磷酸盐，pH7.5，保存于结冻状态。

心肌黄酶的纯化

部分	总体积，mL	总活力，U	蛋白质，mg/mL	比活，U/mg	回收率
1. 匀浆	5000	17000	9.2	0.40	—
4. 氢氧化铝洗脱	240	9000	2.5	15.0	53
5. 硫酸铵0.27～0.52饱和度	30	7200	6.0	40	42
7. 最后溶液	10	2000	2.0	100	11.7

参 考 文 献

〔1〕 Colowick S. P. and Kaplan N. O.: "Methods in Enzymology", Vol. Ⅱ, Academic Press, New York and London, 707, 1955.

T_4-DNN连接酶　　Ⅱ-2(1)-0024

T_4-DNA ligase (*E. coli* NM989)

别名　Poly〔deoxyribonucleotide〕: poly〔deoxyribonucleotide〕 ligase〔AMP forming〕; Deoxyribonucleic acid ligase

EC 6.5.1.1

分子量 68000

酶催化（1）磷酸二酯键切口的修复通过腴DNA酶引入至双螺旋 DNA 的链；（2）λ噬菌体DNA的H-键圆复式或多联体转化成共价键的圆分子或多联体。

单位定义 在37℃，pH7.6，20分钟能催化1mμmol 的 ^{32}P- 磷酸单酯转化成磷酸酯-抗性形式的酶量为 1 单位。

理化性质 在66mmol/L Tris-HCl缓冲液中，最适pH7.2～7.8。在pH6.9和8.0时，酶的活力分别只有在7.6时的46%和65%。

激活剂有Mg^{2+}，Mn^{2+}（只及 Mg^{2+} 的$\frac{1}{4}$）；SH(如(DTT)和β-巯基乙醇)；ATP是必需的。

制备方法[1] 除注明外，所有操作都在 0～5℃ 进行。所有缓冲液含 0.01 mol/L β-巯基乙醇。所有离心为15000×g，10分钟。

1. 细菌的生长 *E. coli B*在37℃，50L含酪蛋白水解氨基酸(*casamino acids*)（2g/L）的M-9培养基通气生长。细胞密度为2×10^9/mL时，增殖率为 4，加入T4r噬菌体。感染20分钟后，培养物快速冷至5℃，连续离心(35000×g，流速0.5L/min)。胶状浆（105g）保存于－40℃ 9 个月后，仍不损失活力。

2. 细胞抽提液 结冻细胞（45g湿重）悬浮于480mL 0.05mol/LTris-HCl缓冲液（pH 7.4）含0.001mol/L谷胱甘肽中以替代β-巯基乙醇。用超声波（每次165mL）处理10分钟。抽提液离心除去细胞碎屑，得 500mL 上清液。加入足够量的同上缓冲液使产生溶液其光密度（260nm）为68（Ⅰ部分）。

3. 链霉素分级 在45分钟内搅拌加入170mL5%(w/v) 硫酸链霉素至850mL抽提液中。15分钟后悬浮液离心，取上清液（Ⅱ部分）。

4. 硫酸铵沉淀 在搅拌下逐渐加入固体硫酸铵（320g）至Ⅱ部分（970mL)。混合物搅拌30分钟。离心收集沉淀，溶于100mL 0.01mol/L Tris-HCl缓冲液（pH7.6)--0.1mol/L氯化钠（Ⅲ部分）中。

5. DEAE-纤维素分级 制备DEAE-纤维素柱（$25cm^2\times20cm$），并用 9L 0.01 mol/L Tris-HCl缓冲液（pH7.6）洗涤。Ⅲ部分（1.7g蛋白）对4L同样缓冲液透析12小时，注入柱。柱用1L 0.01mol/L Tris-HCl 缓冲液（pH7.6）洗涤，酶用含 0.3 mol/L 氯化钠的同样缓冲液洗脱。0.3mol/L洗脱物每份收集100mL。得上柱的80%的酶在300mL洗脱物中（Ⅳ部分）。

6. DEAE-纤维素层析 制备柱同上。Ⅳ部分（1g蛋白）对18L平衡缓冲液透析，并注入柱。柱用1L同样缓冲液洗涤。系用线性梯度洗脱（总容积 9L），以 0.01mol/L Tris-HCl缓冲液（pH7.6）和0.01mol/L Tris-缓冲液（pH7.6)-0.3mol/L氯化钠作为界限浓度。收集250mL/15min一份。上柱的活力中，80%在6.5～9.5树脂床体积洗出物时洗脱出来。含酶比活大于100/mg蛋白者合并，Ⅴ部分为750mL。

7. 磷酸纤维素层析 制备磷酸纤维素柱（$7cm^2\times17cm$），先用500mL 0.02mol/L磷酸钾缓冲液（pH7.6）－0.6mol/L氯化钾洗涤，然后，用2L 0.01mol/L磷酸钾缓冲液（pH 7.6）－0.1mol/L氯化钾洗涤。Ⅴ部分（113mg蛋白）用等体积 0.01mol/L磷酸钾缓冲液（pH7.6）－0.10mol/L氯化钾稀释得1.5L。稀释酶液上柱，柱用220mL 同样缓冲液洗涤。

采用线性梯度洗脱（总容积2L），以0.01mol/L磷酸钾缓冲液（pH7.6）-0.01mol/L氯化钾和0.01mol/L磷酸钾缓冲液（pH7.6）-0.50mol/L氯化钾作为界限浓度。收集每份22mL/4min。上柱的活力中，70%在9.5～12.5倍树脂床体积洗出物时，洗脱出来。合并含多于加入酶活的5%部分。Ⅵ部分为132mL。

8．酶的浓缩　制备磷酸纤维素柱（$1cm^2 \times 5cm$），用200mL 0.01mol/L磷酸钾缓冲液（pH7.6）-0.10mol/L氯化钾洗涤。Ⅵ部分加220mL 0.01mol/L磷酸钾缓冲液（pH7.6）稀释至350mL。稀释酶液上柱，用0.01mol/L磷酸钾缓冲液（pH7.6）-0.5mol/L氯化钾洗脱。上柱的活力中，90%被洗脱在6mL水（Ⅶ部分）中。

浓缩的磷酸纤维素部分（Ⅶ部分）代表1000倍纯化，产率5%。

T_4-DNA连接酶的纯化

步骤	连接酶活力 $U \times 10^{-2}$	蛋白质 mg/mL	比活 U/mg蛋白	产率 %
细胞抽提液	153	11.4	1.6	100
链霉素分级	98	5.0	2.0	64
硫酸铵沉淀	48	15.2	2.8	31
DEAE纤维素分级	38	3.5	3.6	25
DEAE纤维素层析	16	0.15	14	10
磷酸纤维素层析	9	<0.01		5
浓缩	8	0.08	1700	5

贮存　粗抽提液在0℃至少保存1周。所有各步纯化品在0℃可放1～2天，活力减少不超过10%。磷酸纤维素部分（Ⅵ部分）在浓缩前有不同的不稳定性。在0℃保存Ⅵ部分从2～6周保存期中，丧失原来活力的50%。浓缩的纯酶（Ⅶ部分）在0℃6个月的保存期中丧失其原来活力的50%。Ⅶ部分加甘油至50%保存于-15℃6个月仅损失酶活少于10%。

参 考 文 献

〔1〕 Weiss B, et al. : J. Biol. Chem. 243, 4543(1968).

弹性蛋白酶（猪胰）　Ⅱ-2(1)-0025

Elastase

别名　胰肽酶E Pancreatopeptidase E.

EC　3.4.21.11

分子量　约25 800

酶反应　弹性蛋白酶作用于弹性蛋白、它是丝氨酸蛋白水解酶。

单位定义　在37℃，pH8.8，20分钟溶解1mg弹性蛋白的酶量为1单位。

理化性质　弹性蛋白酶是广泛存在于哺乳动物胰脏中的肽链内切酶，对蛋白质底物有广泛的专一性，能水解弹性蛋白、胶原蛋白、糖蛋白等底物。其稳定性较差，对胰蛋白酶的水解作用有很强的抗性；而在酸性条件下（pH_4）很易被胃蛋白酶水解而失去活性；弹性蛋白酶溶液（pH8.8，0.02mol/L磷酸缓冲液）对温度非常敏感，该酶在pH8.8，37℃保温，其活性丧失较慢，在pH4时失活较快，pH3时更易失活。

它是单链多肽含240氨基酸残基和4个双硫键。

抑制剂　二异丙基氟磷酸（DFP）、烷基异氰酸；丙氨酸、缬氨酸、白氨酸和异白氨酸

的二肽衍生物都是有效的竞争性抑制剂。大豆胰蛋白酶抑制剂和激肽稀放酶抑制剂抑制水解酶活力但不抑制作用弹性蛋白的活力。

理化参数 $A_{280}^{1\%}$22；PI8.5；最适pH8.5。

制备方法[1] 1kg新鲜猪胰脏和100g猪十二指肠一起绞碎，加入蒸馏水1L，置捣碎机中搅拌，加入2mol/L氢氧化钠调pH至7～7.5，混合物在10℃放置16小时使激活。然后，加入0.2mol/L乙酸盐缓冲液（pH4.8）2L，搅拌4小时，放置过夜，加入硅藻土300g搅拌，过滤。

滤液加入固体硫酸铵使达0.45饱和度进行盐析。生成的沉淀溶于0.1mol/L磷酸盐缓冲液(pH7.0）中（按每克沉淀用缓冲液6mL)，置20℃，20小时，过滤，滤液冷却至4℃，加硫酸铵至0.35饱和度，过滤收集沉淀，将此沉淀溶于0.1mol/L碳酸盐缓冲液（pH7.0）中（按每克沉淀用缓冲液6mL)，将弹性蛋白酶的晶种加入到溶液中于5℃搅拌，使之结晶。收率2.7g。酶活力155U/mg。

用途 该酶具有降低血清胆固醇、阻止动脉斑块形成、降低血压、扩张血管、增加心肌血流量和提高血中cAMP的含量等功能。

贮存 冻干粉－20℃，悬浮液＋4℃。

参 考 文 献

〔1〕 颜凯（译自U.S. Patent 4071410,1978):生化药物杂志，31,78（1985)。

无花果蛋白酶 Ⅱ-2(1)-0026

Ficin(Ficus carica)

EC 3.4.22.3

分子量 约25000

酶反应 无花果蛋白酶能水解蛋白质或合成底物，如：酪蛋白、对硝基苯基苄氧羰基甘氨酸（*p*-NPZG)。

单位定义 在规定条件下，以对硝基苯基苄氧羰基甘氨酸为底物，1分钟引起在400nm光吸收增加1.0所需的酶量为1单位。

理化性质 50℃2小时无花果蛋白酶在pH4.5～9.5之间显示最高稳定性，除了在pH8有一最低值。无花果酶溶液在结冻状况下，长时间保存会丧失活力。对无花果酶在水或挥发性盐类的溶液冷冻干燥导致完全失活。事实上仅透析除去盐就足以引起酶的几乎完全和不可逆失活。活力的损失可以用0.01mol/L磷酸缓冲液(pH7)，含0.1mol/L氯化钠冷冻干燥以避免。

制备方法[1] 约20g粗胶乳粉悬浮于200mL 0.01mol/L连四硫酸盐钠含0.001mol/LEDTA中。连四硫酸盐用以使酶可逆性地失活通过SH转化为次磺酰硫代硫酸（$SSSO_3$)$^-$，因而减少由于氧化和自溶的损失。悬浮液的pH用1.0mol/L氢氧化钠调至中性，混合物在室温搅拌3小时。离心除去不溶物，上清液在4℃加入氯化钠（17.7g/100mL上清液)。在4℃放置几小时后，沉淀离心收集。悬浮沉淀于100mL含0.005mol/L磷酸钠，0.001mol/L连四硫酸盐钠和0.001mol/LEDTA的（pH7.1）缓冲液中。对同样缓冲液透析过夜，然后柱层析。在纯化的任一阶段酶活力的恢复可加5000倍摩尔的巯基乙醇或300倍摩尔的二巯基赤藓醇。

贮存 ＋4℃。

参 考 文 献

〔1〕 Perlmann G E, and Lorand L.:"Methods in Enzymology", Vol. XIX, Academic Press, New York and London, 264, 1970.

α-半乳糖苷酶 Ⅱ-2(1)-0027

α-Galactosidase

别名 蜜二糖酶 Melibiase; α-D-Galactoside galactohydrolase

EC 3.2.1.22

酶反应 它是催化α-半乳糖苷水解的酶类。该酶还能分解其他α-半乳糖苷低聚糖如棉子糖、水苏糖和毛蕊花糖等。α-D-半乳糖苷 + H_2O = 醇 + D-半乳糖。

理化性质 结晶酶系一种糖蛋白，在pH为中性或碱性条件下稳定，而在pH6.0以下不稳定。

理化参数 从咖啡豆中可制得α-半乳糖苷酶Ⅰ和Ⅱ。其最适pH分别为5.3和6.3。以α-苯基半乳糖苷为底物，其K_m分别为2×10^{-3}和1×10^{-3}mol/L。

制备方法[1] 葡酒色被孢霉液体深层培养法。

将葡酒色被孢霉孢子接种在15L培养液的发酵罐中，在30℃，搅拌200转/分钟，通气为1:0.5，培养24小时，作为种子。〔其培养液的组成(%)为乳糖1.0、玉米浆1.0、硫酸铵1.0、碳酸钙0.3、磷酸二氢钾0.3及$MgSO_4\cdot7H_2O$ 0.2〕，移接入600L发酵液中，30℃，搅拌80转/分钟，通气为1:0.5，以硅油（Silicon KM-70）为消沫剂，发酵72小时，离心收集菌丝体，充分洗涤后贮藏于－20℃，菌丝体的产量近60kg（湿重）。

用途 用于处理甜菜糖废糖蜜能将阻碍蔗糖结晶的棉子糖消除，而且在分解1分子棉子糖时，还能产生1分子蔗糖，使蔗糖收率提高。

贮存 ＋4℃。

参 考 文 献

〔1〕 张树政:"酶制剂工业"(下册)，科学出版社，780，1984年。

β-半乳糖苷酶 Ⅱ-2(1)-0028

β-Galactosidase(E. *coli*)

别名 β-D-Galactosidase galactohydrolase

EC 3.2.1.23

分子量 130000

酶反应

β-D-半乳糖苷 + H_2O ⟶ 半乳糖 + 醇

单位定义 在25℃，pH7.5，1分钟水解1μmol的邻硝基苯-β-D-半乳糖苷的酶量为1单位。

理化性质 每1分子β-半乳糖苷酶含至少12个游离巯基。在酶免疫测定方面它专门用于标记。激活剂为单价阳离子对酶有刺激效应。甲醇，乙醇、异丙醇和正丙醇，其浓度为5%时都增加邻硝基苯-β-半乳糖苷（ONPG）的酶切率。

抑制剂 在Mg^{2+}不存在时，β-巯基乙醇引起解离。

稳定性 冻干粉在氮气下装瓶，原装封存于－20℃，12个月内在比活或游离巯基数方面

无引起明显的下降。结晶悬浮液+4℃保存；12个月内活力下降约10%。

理化参数 最适pH6～8；$A_{280}^{1\%}$20.9。

制备方法[1] Steers等人，采用竞争性抑制剂对氨基苯-β-D-硫代半乳糖苷共价结合于琼脂糖衍生物上，作为专一的柱层析吸附剂的亲和层析法，从25g细菌制得酶，产率95%。

采用*E. coli* K-12，3300株。培养基和生长条件同(J. Biol. Chem., 240,2468(1965)。25g细胞（湿重）悬浮于100mL缓冲液（0.05mol/LTris-HCl, 0.1mol/L氯化钠和0.01mol/L氯化镁中，用超声波在2℃处理1分钟。细胞悬浮液离心(48000×g，20分钟)。上清液用硫酸铵分级提纯，加固体硫酸铵至50%饱和，离心（48000×g 10分钟)。沉淀溶解于约25mL缓冲液中，对6L同样缓冲液透析20小时。

透析抽提液（20mL）注入柱（1.5×22cm）上。柱用对氨基苯-β-D-硫代半乳糖苷-琼脂糖装好（硫代半乳糖苷6μmol/mL琼脂糖)。柱先用缓冲液洗，接着用含适当底物的缓冲液或0.1mol/L硼酸钠（pH10.05）洗。

用此方法纯化的酶，比活300000～320000U/mg。

参 考 文 献

〔1〕 Steers E. Jr., Cuatrecasas P. and Pollard H. B.; *J. Biol. Chem* 246,196 (1971).

葡 糖 氧 化 酶 Ⅱ-2(1)-0029

Glucose oxidase(*Aspergillus niger*)

别名 GOD；β-D-Glucose: oxygen 1-oxidoreductase

EC 1.1.3.4

分子量 约150000

酶反应 β-D-葡糖+酶-FAD⇌

酶-$FADH_2$+δ-D-葡糖酸内酯

酶-$FADH_2$+O_2⟶酶-FAD+H_2O_2

单位定义 在25℃，pH6.0，1分钟氧化1μmol邻联(二)茴香胺的酶量为1单位。

理化性质 高纯度酶制剂为淡黄色粉末。易溶于水；完全不溶于乙醚、三氯甲烷、丁醇、吡啶、甘油、乙二醇、二噁烷、丙撑二醇、甲酰胺等。50%丙酮、66%甲醇能使其沉淀。能被弱酸性离子交换树脂及氧化铝等吸附。溶液在摇动时，泡沫呈棕绿色，不能透过硝化纤维膜。一般制品都含有过氧化氢酶。pH6.0～7.0的水溶液稍有一点左旋，$[\alpha]_D^{20}$-4.8°（C=0.0123)。每摩尔酶蛋白含2molFAD。最大光吸收液长为377和455nm。在紫外光下无荧光，但是在热、酸或碱处理后，具有FAD特殊的绿色。

稳定性 固体酶制剂在0℃，保存至少稳定两年，在-15℃下能稳定8年；0.1～0.2%的水溶液在5℃稳定1周；湿度高于40℃时酶活性逐渐丧失；酶的水溶液在60℃半小时后，酶活性损失80%以上。在室温下，于硫酸铵溶液中的结晶酶可稳定一段时间。

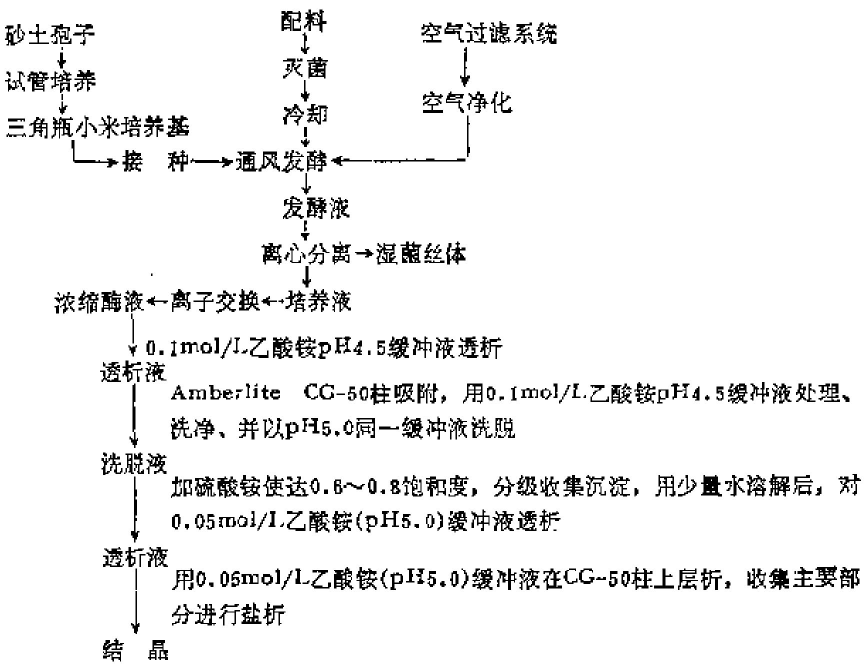
酶含两个相同的多肽链亚基(分子量80000)用二硫键共价结合起来。每一亚基含1分子的铁和1分子的FAD。酶分子含约74%蛋白，16%中性糖和2%氨基糖。

葡糖氧化酶的最适pH为5.6，范围在4～7。在pH3.5～6.5时具有很好的稳定性。pH大于8.0或小于2.0均会迅速失活。结晶酶在pH3.5～7.6，40℃下是稳定的；pH8.1，10分钟后失活90%；pH9.1失活更快。但是，无论是在pH8.1或9.1，只要有葡糖的存在，即能起

到保护作用。

抑制剂　为Ag^{+}，Hg^{2+}，Cu^{2+}。FAD结合被几个核苷酸所抑制。

制备方法[1]　葡糖氧化酶的生产一般都采用黑曲霉和青属菌株作生产菌，较多采用后者的菌种进行深层通风培养方法制取。其工艺流程（500L）为



贮存　经过离子交换树脂提纯的液体酶制剂可以在室温下避光保藏。用于贮存液体葡糖氧化酶的容器不宜用铁器（会使酶失活），采用聚乙烯贮器较佳。

参　考　文　献

〔1〕 张树政："酶制剂工业"（下册），科学出版社，671，1984年。

葡糖-6-磷酸脱氢酶（酵母）　　Ⅱ-2(1)-0030

Glucose-6-phosphate dehydrogenase

别名　间酶 Zwischenferment；G-6-PDH；D-Glucose-6-Phosphate：NADP-1-oxidoreductase

EC　1.1.1.49

分子量　104000，由两个亚基（55000）组成

酶反应

$$\text{D-葡糖-6-磷酸} + NAD^{+}(P^{+}) \rightleftharpoons \text{D-葡糖酸内酯-6-磷酸} + \begin{matrix}NADH\\(NADPH)\end{matrix} + H^{+}$$

单位定义　在30℃，pH7.8，1分钟还原1μmol吡啶核苷酸的酶量为1单位。

理化性质

激活剂　需要10mmol/LMg^{2+}测到全部G6PDH活力。

抑制剂　为5′-磷酸吡哆醛，1-氟-2,4-二硝基苯。

理化参数　$A_{280}^{1\%}$11.5；PI pH4.6；最适pH7.8。

制备方法[1]

1. 粗抽提液的制备 100g干酵母（*candida utilis*），在500mL5mmol/L EDTA(pH 7.5) 含0.5mmol/L巯基乙醇37℃自溶。4小时后悬浮液离心（20000×g)10分钟，弃沉淀。

2. 除去核酸 鱼精蛋白（90mg/10g酵母）溶于水中，浓度2%。在机械搅拌下，滴加进上清液。在冰浴5分钟后浑浊溶液离心10分钟，弃沉淀。上清液能不损失G6PDH活力地通过DEAE纤维素过滤。此柱将分离戊磷酸异构酶（吸附在DEAE-纤维素柱上）。

3. 磷酸纤维素层析 上述上清液调pH至6.2，与150g磷酸纤维素（预先用0.25mol/L乙酸钠，pH6.3平衡）混合，混合匀浆倒入柱（55×330mm）内，用约3L0.25mol/L乙酸钠（pH6.3）洗涤。当流出液的光吸收280nm降低到0.1以下，接至部分收集器上，用0.2mol/L磷酸缓冲液含1mmol/LEDTA和0.5mmol/L2-巯基乙醇(pH6.3)洗脱。此步将先洗脱6-磷酸葡糖酸脱氢酶（6PGADH），再洗脱G6PDH活力。把所有含G6PDH部分合并，对10mmol/L丙二酸盐6.0/1mmol/LEDTA/0.5mmol/L2-巯基乙醇透析。

4. CM-Sephadex层析 透析过的酶通过CM-Sephadex C-50柱（55×120mm,柱先用同透析外液缓冲液平衡）。吸附后，柱用线性梯度（1L丙二酸缓冲液对1L0.3mol/L氯化钠在丙二酸缓冲液中）洗涤。洗涤后，柱连到部分收集器上,洗脱剩余的6PGADH和G6PDH，可用0.4mol/L氯化钠在丙二酸缓冲液中进行，收集每份15mL。合并所有含G6PDH部分，对0.25mol/L乙酸钠（pH6.3）透析。

5. 从磷酸纤维素中用底物洗脱 所有的G6PDH活力能吸附到一根用乙酸缓冲液平衡过的磷酸纤维素柱（12×15mm）上。用200mL乙酸缓冲液洗涤后，G6PDH定量地用25mL溶液（1%G-6-P在0.25mol/L乙酸钠，pH6.3）洗脱。

6. 结晶 用超滤法把稀酶液浓缩至约2mL。纯化酶液（5～10mg/mL）移入5mm直径玻璃管中，其底端用潮的透析管固定（以橡皮筋扎紧），管子插入盛80%硫酸铵（pH7.5，4℃）的烧杯中。酶以均匀针状结晶出现。

G-6-PDH的纯化

步　骤	体积mL	总单位	蛋白mg	比活u/mg	产率 %
粗抽提液	315	3000	7700	0.39	100
鱼精蛋白硫酸盐上清液	340	2990	5200	0.58	100
从磷酸纤维素洗脱液	226	2290	178	12.8	76
从CM-Sephadex 洗脱液	75	1930	23	83	64
从*P*-纤维素底物洗脱液	32	1455	2.7	533	49
第一次结晶部分	1.3	1400	2.7	510	46

贮存 在50%硫酸铵中，酶保存于冰箱中数月不丧失活力。

参 考 文 献

〔1〕 Chilla R., et al; *Arch. Biochem. Biophys.*, 159, 235 (1973).

β-葡糖苷酸酶（牛肝） Ⅱ-2(1)-0031

β-Glucuronidase

别名 β-D-Glucuronide glucuronosohydrolase

EC 3.2.1.31

分子量 290000

酶反应 此酶水解大量不同的结合葡糖苷酸，但不水解α-或β-葡糖苷。

结合的β-D-葡糖苷酸 + $H_2O \longrightarrow$ 醇 + D-糖葡苷酸

单位定义 在37℃，pH4.5。1分钟分解1μmol酚酞葡糖苷酸的酶量为1单位（1 Worthington单位相当于19000FishmanU）。

酶化性质 此酶是含唾液酸的糖蛋白，含6.3%糖。甘露糖:半乳糖:葡糖:氨基葡糖:唾液酸＝45:8:7:32:5。

抑制剂 为有机的过氧化物。此酶在尿甾类测定中有广泛的应用价值。

理化参数 s为14S $A_{280}^{1\%}$17.0。pI5.1。最适pH4.4。

稳定性 +4℃保存（在50%(v/v)甘油，pH6.5，以链霉素作稳定剂）。6个月内活力下降约10%，可能有浑浊并不影响活力。

制备方法[1]

1. 匀浆 新鲜小牛肝（20kg）除去脂肪和主要的血管。切成小块，打成匀浆，每批500g，和500mL含1mmol/LEDTA的冰冻0.07mol/L乙酸乙酯缓冲液，pH5.0，捣碎2分钟。

2. 硫酸铵沉淀 粗匀浆冷冻离心（10000×g，30分钟）。上清液加固体硫酸铵，使饱和度达0.60。置0℃过夜，沉淀离心（10000×g，30分钟)收集，然后，溶于含1mmol/LEDTA的0.07mol/L乙酸乙酯缓冲液（pH5.0）中。不溶物离心（10000×g，30分钟）除去。

3. 乙醇分级 上述合并酶液（32mg蛋白/mL)1份，加0.4体积冰冷乙醇，混合液离心（10000×g，30分钟），沉淀弃去。上清液再用0.7倍体积冰冻乙醇处理，并在冰中冷却10分钟。混合液离心(同上)，弃去上清液。沉淀溶于含1mmol/LEDTA的0.07mol/L乙酸乙酯缓冲液（pH5.0）中，不溶物离心除去（50mg蛋白/mL)。乙醇分级一步产率通常为约65%。比活提高约37倍。

4. 有机溶剂分级 加0.5倍酶液体积的冰冷有机溶剂混合液（乙醇-丙酮-乙醚15:4:1，v/v）至酶液中，混合液在冰中冷却10分钟。混合液离心（10000×g，10分钟），弃去沉淀。上清液加以等体积冰冷有机溶剂混合液，混合液在冰中冷却10分离，离心(10000×g，30分钟)，弃去上清液。沉淀溶于含1mmol/LEDTA的0.07mol/L乙酸乙酯缓冲液(pH5.0）中，如有不溶物，离心除去（5.5mg蛋白/mL)。这一步比活提高2.6倍。产率约34%。

5. 有机溶剂重分级 重复4。酶产率75～85%；比活提高约1.5倍。

6. 凝胶过滤 合并酶液，用超滤膜浓缩至约70mg蛋白/mL，最终容积50mL。10mL浓液上SephadexG-200柱（2.5×100cm），用含1mmol/L EDTA的0.07mol/L乙酸乙酯缓冲液（pH5.0）洗脱，流速5mL/h。酶活力刚在外水体积之后以单一对称峰被洗脱下来。比活提高5～7倍，产率＞90%。

7. 等电聚焦（第一次）合并Sephadex G-200层析部分，浓缩至约5mg蛋白/mL(最终体积90mL)，进一步在LKB8102型柱上等电聚焦。pH梯度从4至6。酶活有2个峰。大的峰回收总活力的80%，此峰的等电点为pH5.1。小峰含总活力的20%，其等电点为pH5.9。大峰38～50管合并，用于进一步提纯。合并产物浓缩至10mL。通过Sephadex G-200层析除去载体两性电解质，因为它干扰蛋白质测定。酶产率约为50%，比活提高约2.9倍。

8. 等电聚焦（第二次）合并7.酶部分，再用等电聚焦处理。合并35～48管，浓缩至10

mL。用Sephadex G-200层析除去载体两性电解质。此步的酶比活为匀浆 的 10,700 倍。总产率为12%。

β-葡糖苷酸酶纯化步骤

步　骤	酶活U	蛋白g	比活U/mg	产率%	提纯倍数
匀浆	10440	3070.6	0.0035	100	1
离心上清液	10440	1054.5	0.0099	100	3
60%硫酸铵分级	10440	892.3	0.0117	100	4
乙醇分级	6786	15.7	0.430	65	127
有机溶剂分级	5786	5.01	1.152	55	340
有机溶剂重分级	4903	2.95	1.648	45	500
Sephadex G-200层析	4467	0.446	10	41	2945
等电聚焦(第一次)	2735			23	
Sephadex G-200层析	2496	0.086	29.2	21	8343
等电聚焦（第二次）	1985			17	
Sephadex G-200层析	1437	0.038	37.6	12	10700

参 考 文 献

〔1〕 Himeno M., Hashiguchi Y. and Kato K.: *J. Biochem.*, 76,1243 (1974).

甘油醛-3-磷酸脱氢酶（兔肌）　Ⅱ-2(1)-0032

Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

别名 GAPDH; D-Glyceraldehyde-3-phosphate: NAD^+oxidoreductase〔phosphorylating〕, Triosephosphate dehydrogenase

EC 1.2.1.12

分子量 36000

酶反应

D-甘油醛-3-磷酸 + NAD^+ + P_i $\rightleftharpoons$ 1,3-二磷酸甘油酸 + NADH + H^+

单位定义 在30℃, pH7.0, 1分钟转化1.0μmol的D-甘油醛-3-磷酸为1,3-二磷酸-D-甘油酸的酶量为 1 国际单位。

理化性质 用此法制得酶制剂比活为约185U/mg蛋白。蛋白浓度用A_{280}分光光度法测定，采用1.00mL/mg/cm和0.83mL/mg/cm分别代表全酶和脱辅基酶的消光系数。酶在聚丙烯酰胺凝胶电泳中以区带的形式移动。每一酶分子含3.8～4.0高活性的半胱氨酸残基5,5′-二巯基-2,2′-二硝基苯甲酸测得）并能与4.0分子的NAD^+或NADH结合。

当保存于5℃，悬浮液在几个月内是稳定的。如需要长期保存，建议不定时地换新的介质（离心，并重新悬浮于新鲜的介质中）。在液氮中结冻往往造成活力的部分损失。

制备方法[1]

1. **抽提** 宰兔，迅速从背和腿部取骨骼肌（约300g），在5℃捣碎机捣成匀浆（约120mL溶液/100g肌肉，溶液含30mmol/L氢氧化钾，5mmol/LEDTA和1mmol/L二巯基苏糖醇）。以下步骤在0～5℃进行。搅拌15～20分钟后，抽提物离心（30000g，20分钟），肉糜重新用等体积的新鲜介质抽提。

2. **硫酸铵分级分离** 合并抽提液，pH约为7,加固体硫酸铵（Merck, suprapur）分三

个阶段：30g/100mL抽提液在第一阶段，11.7g/100mL上清液在第二阶段，4g/100mL剩余的溶液在第三阶段。用35%(w/w)氨溶液维持pH在7.0～7.5。在开始的两次每次加硫酸铵后，悬浮液放置30分钟，沉淀的蛋白离心（30000g，60分钟）除去。在最后一次加硫酸铵后，用氨溶液调pH至7.8～8.0。放置过夜，悬浮液离心（30000g，60分钟），沉淀溶于约50 mL含5mmol/L吗啡啉丙磺酸（MOPS），1mmol/LEDTA和1mmol/L二巯基赤藓醇缓冲液（pH6.4）中。

3. 层析　深红色清液通过Sephadex G-50柱（4×40cm），预先用同上缓冲液（pH 6.4）平衡柱。此步亦可用长时间透析代替，但较费时间。滤液转至CM-Sephadex(C-25，K^+型）同样大小的柱。用同样缓冲液洗涤直至第一个蛋白质出现在洗脱物中。酶用含5mmol/L吗啡啉丙磺酸，1mmol/LEDTA，1mmol/L二巯基苏糖醇和0.1mol/L硫酸铵的缓冲液（pH7.5）洗脱。纯酶以对称峰出现。合并活力部分（约100 mL含7～10mg酶/mL，pH 6.5），使之含1mmol/LNAD$^+$，并用氨溶液调至pH7.0。然后加固体硫酸铵（50g/100mL）至黄色全酶溶液中。酶在几天内结晶。从100g肌肉可得酶约300mg。

参 考 文 献

〔1〕 Wood W. A.; "Methods in Enzymology", Vol 89, Academic Press, New York, London, Paiis, San Diego, San Francisco, São Panlo, Sydney, Tokyo, Toronto 305, 1982.

α-磷酸甘油脱氢酶　　Ⅱ-2(1)-0033

α-Glycerophosphate dehydrogenase

别名　α-GDH；Glycerol-3-phosphate dehydrogenase；Glycerol-1-phosphate dehydrogenase；Glycerol-3-phosphate：NAD$^+$ 2-oxidoreductase；L-Glycerol-3-phosphate：NAD oxidoreductase；D-3-phosphoglycerate dehydrogenase

EC　1.1.1.8

分子量　兔肌78000（pH6.3），173000(pH5.6)

酶反应

L-甘油-3-磷酸＋NAD＝二羟丙酮磷酸＋还原NAD

单位定义　在30℃，pH6.0，NAD的存在下，1分钟转化1.0μmol的L-甘油-3-磷酸为二羟丙酮磷酸的酶量为1国际单位。

理化性质　抑制剂为二羟丙酮磷酸和果糖-1,6-二磷酸。

制备方法[1]　所有操作在4℃进行。硫酸铵分级是在搅拌下，缓慢加入计算量的固体硫酸铵。所形成的悬浮液平衡30分钟后离心。离心条件为14000×g，25分钟。采用纤维素衍生物层析时，洗脱液中蛋白质用A_{260}检测。

一、鸡肝（2.13kg）用4.26L等渗氯化钾（pH7.4）在捣碎机中捣1分钟。离心得上清液（A部分），缓慢地加入1mol/L乙酸调至pH4.6。悬浮液搅拌15分钟。沉淀离心弃之。

二、鸡肝同前法捣碎于2倍0.15mol/L乙酸钾缓冲液（pH4.6），含3×10^{-3}mol/L EDTA和1×10^{-3}mol/L β-巯基乙醇，匀浆离心。上清液（B部分）在pH4.6加以24mmol EDTA（pH6.0）和3.5mmol β-巯基乙醇，最终体积为3.53L。溶液加入954g硫酸铵使达0.43饱和度。离心所得沉淀重新悬浮于353mL 5×10^{-3}mol/L EDTA含2.0×10^{-3}mol/L β-巯基乙酸（原来体积的0.1倍）中。离心所得沉淀弃之，上清液（C部分）通过加入465mL

0.5mol/L磷酸钾缓冲液(pH7.8，含0.5×10^{-3}mol/L β-巯基乙醇和3×10^{-3}mol/L EDTA)以调节pH至7.2，并加入111.6g硫酸铵使达0.21饱和度。离心除去硫酸铵沉淀，上清液加以111.6g硫酸铵使达0.41饱和度。离心收集沉淀，在－15℃可保存数天。

(除另外注明外，以下纯化各步所用缓冲液都含0.5×10^{-3}mol/L β-巯基乙醇和3×10^{-3}mol/l EDTA) 上述0.21～0.41硫酸铵沉淀溶于200mL 0.01mol/L磷酸钾缓冲液(pH6.0)中，所得溶液对相同缓冲液透析，换外透析液直至透析物对奈氏试剂产生阴性反应(约6小时)为止。酶溶液(D部分)用0.3mol/L氢氧化铵调节pH至7.6，并上DEAE-纤维素柱(6×14cm)，柱预先用0.01mol/L磷酸钾缓冲液(pH7.6)平衡。柱用相同的缓冲液洗涤(流速，440mL/h)。内水体积之后收集第一个680mL溶液(E部分)，并用1mol/L乙酸调节至pH5.6。酶液注入CM-纤维素柱(6×40cm)，柱预先用0.01mol/L磷酸钾缓冲液(pH6.0)平衡。柱用相同的缓冲液洗(流速，900mL/h)，直至洗脱物不含蛋白质。柱用0.01mol/L磷酸钾缓冲液(pH 6.9)洗脱，这部分的蛋白质弃去。酶用0.025mol/L磷酸缓冲液(pH 7.4)洗脱(F峰)。把250mL 0.1mol/L磷酸钾缓冲液(pH6.4)加到500mL酶液中，用1mol/L乙酸调节至pH6.0，并上CM-纤维素柱(4.5×14cm)，柱预先用0.01mol/L磷酸钾缓冲液(pH6.0)平衡。柱用0.05mol/L磷酸钾缓冲液(pH6.0)洗脱；收集酶液800mL(G部分)并加320g硫酸铵使饱和度达0.62。离心收集沉淀的蛋白质，它在－15℃可保存数天。

硫酸铵残渣溶于0.01mol/L磷酸钾缓冲液(pH6.0)中，得最终体积为35mL，形成的溶液上Sephadex G-25柱(4.6×54cm)，柱预先用0.01mol/L磷酸钾缓冲液，(pH6.0)平衡。柱用相同的缓冲液洗；收集到的蛋白溶液110mL，对奈氏试剂呈阴性反应。蛋白溶液上磷酸纤维素柱(4.7×15.5cm)，柱预先用0.01mol/L磷酸钾缓冲液(pH6.0)平衡。柱用50mL相同的缓冲液洗，并用磷酸盐浓度梯度以洗脱。恒定容积混合器中含350mL 0.01mol/L磷酸钾缓冲液(pH6.0)，而贮器中含0.3mol/L磷酸钾缓冲液(pH6.0)。磷酸甘油脱氢酶在0.12mol/L磷酸钾部分(第1个蛋白峰，H部分)洗脱出来，最高比活达20000。合并部分(占上柱酶量的79%)的平均比活为15600。含酶的洗脱液(88mL)加35.2g硫酸铵使饱和度达0.62。离心收集沉淀。沉淀置－15℃数周，失活不多。短期保存，酶液可以饱和硫酸铵悬浮液保存于＋4℃。

三、商品兔肌甘油-3-磷酸脱氢酶的纯化[2] 结晶的酶制剂(在60%硫酸铵中)去盐，同时结合用几种方法提纯，包括凝胶过滤(Sephadex G-100或G-200，DEAE-Sephadex A-50，或聚丙烯酰胺凝胶Bio-Gel P-100或琼脂糖Bio-Gel A 0.5m)。含酶活的部分合并，超滤浓缩(Amicon XM_{50}或UMI膜)。

贮存 ＋4℃保存。

参考文献

〔1〕 Walsh D. A. and Sallach H. J.: *Biochemistry*, 4, 1076(1965).

〔2〕 Fondy T. P., Ross C. R. and Sollohub S. J.: *J. Biol. Chem.*, 244, 1631(1969).

已糖激酶(酵母)　　Ⅰ-2(1)-0034

Hexokinase

别名 HK；ATP：D-Hexose-6-phosphotransferase

EC 2.7.1.1

分子量 100000

酶反应 D-己糖＋ATP⇌D-己糖-6-磷酸＋ADP

单位定义 和G-6-P脱氢酶一同测定，在30℃，pH8.0，1分钟还原1μmol的NAD^+或催化1μmol的葡萄糖的磷酸化的酶量为1单位。

理化性质 此酶能把下列底物磷酸化：D-果糖、5-酮-D-果糖、D-葡糖、2-脱氧-D-葡糖、D-甘露糖和D-氨基葡糖。

己糖激酶从酵母中，可分出两种型：P-Ⅰ和P-Ⅱ，它们是单独的、不能互相转换的同Ⅰ酶。P-Ⅰ和P-Ⅱ都含有相同的缬氨酸氨基末端，和相同的丙氨酸羧基末端。

激活剂 有Mg^{2+}和儿茶酚胺。抑制剂为巯基试剂。

理化参数 $A_{280}^{1\%}$ 8.85(P-Ⅰ)，9.47（P-Ⅱ)。pI5.25(P-Ⅰ)，4.93(P-Ⅱ)。最适pH7.5。

制备方法[1]

1．粗抽提液 666g干酵母悬浮于2L预温至37℃的0.2mol/L磷酸氢二钠中，不时搅拌2小时。抽提液冷至10℃，以避免操作时自溶的溶液起泡沫。自溶液离心（4℃，5000转/分钟，45分钟），得粗抽提液（pH6.3～6.5）。离心后加入210mg溶于30mL乙醇中的苯甲基磺酰氟（PMSF）以停止碱性酵母水解酶活性，使减少S型的产生。抽提液加温至25℃，在此温度维持30分钟。约得300000U，比活4.5U/mg蛋白。

2．硫酸铵分级 粗抽提液用3mol/L乙酸在搅拌下，缓慢加入调pH至4.4，置冰浴中冷却。以后各步在冰浴中进行。加超纯硫酸铵（24.3g/100mL）至冷制剂中，达0.40饱和度。沉淀离心（5000转/分钟，30分钟）。上清液再加固体硫酸铵（9.7g/100mL）达0.55饱和度。离心收集沉淀（含己糖激酶）（5000转/分钟，30分钟）。沉淀重悬浮于饱和硫酸铵溶液中，并定量地移入250mL聚丙烯离心杯内。离心（10000转/分钟，30分钟），清液弃去。沉淀4℃保存待用。产率167000己糖激酶单位，粗抽提液总活力的50～60%，比活12U/mg蛋白。

3．透析 硫酸铵沉淀溶于冰冷水中（5次制备或800000U/1L溶液），在4℃搅拌约30分钟。透析袋用先前在1%乙酸中煮沸15分钟。酶液装袋后，对乙酸钠缓冲液（离子强度0.1，pH4.4）在流动装置中透析24小时。沉淀离心除去。上清液用10mol/L氢氧化钠调pH至6.0，如有沉淀离心除去。以后离心要用塑料杯。上清液置上述预处理的透析袋，对含0.1mmol/L EDTA的5mmol/L琥珀酸钠缓冲液（pH6.0），透析48～72小时。透析时产生的沉淀离心除去。上清液能用于层析。比活16～30U/mg蛋白。乙酸透析回收率78%，琥珀酸透析回收率83%。

4．DEAE—Sephadex柱层析 酶注入DEAE-Sephadex A50柱。柱先用含0.1mmol/L EDTA的5mmol/L琥珀酸钠缓冲液（pH6.0）平衡。40000U的酶对每30mL床体积（约1g干重的DEAE-Sephadex)。短柱（内径8.25cm，床体积300～400mL），流速200～250mL/h。柱用10mmol/L琥珀酸缓冲液，（pH5.3，0.2mmol/L EDTA）洗涤，直至洗出液的A_{280}少于0.1，约需7小时。洗液中无己糖激酶。己糖激酶（P-1和P-11）可用3L10mmol/L琥珀酸盐(pH4.5，0.2mmol/L EDTA)洗脱，用瓶收集。用等量水稀释，用1mol/L氢氧化钠调pH至6.0。有少量沉淀出现，可沉下，再上另一根柱。比活200U/mg蛋白。此柱回收率80%。

5．DEAE-纤维素柱层析 酵母的水解酶和己糖激酶的S型能被DEAE-纤维素保留，而P型能被洗脱。DEAE-纤维素和酶在5mmol/L琥珀酸钠（pH6.0，内含0.1mmol/L

EDTA）中平衡。约10000U已糖激酶对1g干重的纤维素；通常400000～500000U加到一根柱上。柱的内径为4.75cm。酶和洗脱用缓冲液用蠕动泵注入，时间18～24小时。柱用pH6琥珀酸缓冲液洗2～4小时。己糖激酶用5mmol/L琥珀酸盐（pH4.5，内含0.1mmol/L EDTA）洗脱，收集每份10～15ml。含酶的部分合并，比活250～300U/mg。此柱回收率66%。把上述合并部分的pH调至6.0，酶溶液用硫酸铵饱和之。在4℃2～4天酶沉淀。沉淀含P-Ⅰ和P-Ⅱ。果糖/葡糖，（F/G），对P-Ⅰ而言是2.8～3.0，P-Ⅱ是1.0～1.2。沉淀的F/G是1.5～1.9。

6．P-Ⅰ和P-Ⅱ用羟基磷灰石柱层析　75g羟基磷灰石加至400mL 0.025mol/L磷酸钾（pH6.8）中。反复悬浮，沉下，倾滗三遍。然后倒入Pharmacia柱（K25/45），内径2.5cm。用泵加溶液至柱中，1mL/1min。用0.025mol/L磷酸钾缓冲液洗柱，1小时后，上述收集的酶并对0.025mol/L磷酸钾透析过的酶液注入柱中。通常80000～120000U/30mL加到柱上。己糖激酶在0.025mol/L磷酸盐中被柱保留。要洗脱P-Ⅱ，缓冲液换成0.05mol/L磷酸盐，pH6.8。用紫外监测器找到含酶部分。每份收集10mL。P-Ⅱ洗脱后，柱用300mL 0.06mol/L磷酸盐（pH6.8）洗涤。没有蛋白峰。P-Ⅰ用0.1mol/L磷酸盐（pH6.8）洗脱。产率40000～60000U P-Ⅱ，F/G1.1～1.3，比活700～1000U/mg。16000～30000U P-Ⅰ，F/G2.5～3.0，比活200～300U/mg。

合并含酶部分，用硫酸铵饱和，加EDTA至0.1mmol/L。合并的沉淀保存于冷室可放几天。羟基磷灰石再生后可重用1次，然后弃去。必须注意一旦用磷酸缓冲液浸湿后，羟基磷灰石必须保持润湿。

P-Ⅰ或P-Ⅱ沉淀溶于0.05～0.1mol/L磷酸钾（pH7，内含0.2mmol/L EDTA）的溶液中，对0.05mol/L磷酸盐透析以除去硫酸铵，并置－15℃。酶保藏时浓度通常为10～50mg/mL。这样的浓度能反复解冻与结冻而不失活。

7．结晶　P-Ⅰ和P-Ⅱ可以从磷酸盐缓冲的硫酸铵溶液在冷中结晶。P-Ⅰ比P-Ⅱ结晶慢。

贮存　＋4℃保存。

参考文献

〔1〕 Womack F. C., et al.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 158, 451(1973).

透明质酸酶（羊睾）　　Ⅲ-2(1)-0035

Hyaluronidase

别名　Hyaluronoglucosidase，Hyaluronate-4-glycanohydrolase

EC　3.2.1.35

分子量　61000或55000（4亚基，各14000）

酶反应　透明质酸酶水解透明质酸中在2-乙酰氨基-2-脱氧-β-D-葡糖和D-葡糖残基之间的内-N-乙酰己糖胺键和硫酸软骨素A与C（但不是B），主要是产生四糖残基，不释放单糖。

单位定义　1单位相当于1U. S. P. /National Formularly单位，参考1标准U. S. P. /N. F.透明质酸酶。

理化性质　此酶为糖蛋白，含5%甘露糖和2.17%氨基葡糖。

抑制剂 有Fe^{2+}，Fe^{3+}，Mn^{2+}和Cu^{2+}。稳定剂为氯化钠。

稳定性为在4℃磷酸缓冲液（20mmol/L，pH6.9）中可保存数天。

理化参数 $A^{1\%}_{280}$ 8。最适pH4.5～6。

制备方法[1]

1．乙酸抽提 结冻睾丸部分解冻，剥去外层，机械绞碎。冷的碎料用等体积的0.1mol/L冷乙酸机械搅拌1小时，置5℃过夜。离心（5000转/分钟，15分钟）。残渣用原来重量的1/3的0.1mol/L乙酸抽提2次。再次抽提可增加粗酶的产量达15%。合并抽提液，通过2cm滤纸浆抽气过滤。滤液（每kg鲜组织可得2L）含约800000单位的透明质酸酶，其纯度为250U/mg氮。

2．硫酸铵初步沉淀 212g固体硫酸铵5℃，快速搅拌至1L抽提液中。过滤除去沉淀，清液再搅拌加入282g硫酸铵，放置过夜。有活性的沉淀收集后，溶于水中（1kg组织所得沉淀溶于150～200mL水中）。溶液含至少90%乙酸所抽提的酶，其纯度为800～1200U/mg氮。

3．透析 对流动自来水透析12～24小时后，冷却至5℃，占体积、无活力的部分凝聚，可通过滤纸浆抽气过滤除去。透析时，低温，因为在这一步酶在水悬浮液中，室温是不稳定的。如果在室温进行透析，活力损失可达20～40%。

4．硫酸铵分级沉淀 250g固体硫酸铵快速搅拌至1L透析滤液。当粗酶与高浓度硫酸铵接触，不需要冷藏。悬浮液通过纸浆快速过滤，得水清样滤液。有时要换1次至几次滤片。浑浊滤液可快速地再通过一个小的厚4cm的滤片。含有沉淀的滤片保留待抽提。清的滤液再加硫酸铵（50g/L）处理，盐浓度增至26%。所得沉淀用前法除去。在硫酸铵为28.5%，31%和33%饱和度时，依次继续除去沉淀。

把每一部分的沉淀立即在捣碎机内与0.015mol/L磷酸-柠檬酸缓冲液(pH5.0，含0.9%氯化钠）混匀。厚的悬浮液倒入布氏漏斗内，抽干，浑浊的滤液再一次通过同一滤饼滤清。滤纸用最小量的缓冲液抽提第二次。合并抽提物，测定氮氮，蛋白氮和透明质酸酶。9kg鲜组织约可得7000000U。

5．乙醇分级 当酶与乙醇接触时，温度必需在0℃以下。所使用的（8L）瓶子，布氏漏斗，抽滤瓶都要保持在－5℃冰浴内。

从硫酸铵处理得到的酶活性近2000U/mg·N_2部分，用0.015mol/L磷酸-柠檬酸缓冲液（pH5.0，含0.9%氯化钠稀释至～0.16mg N/mL。溶液冷却至－5℃，预先在乙醇-二氧化碳浴中冷却的乙醇慢慢地在机械快速搅拌下，加入至0.1mol/L浓度。放置1小时后，用空气压力泵把稍微浑浊的悬浮液加到纸浆过滤漏斗上，抽滤瓶浸在冰浴内。水清样滤液再返回混合用的容器内，再加乙醇至0.15mol/L浓度。同样得到0.20，0.25和0.30mol/L的浓度。每次过滤后，带沉淀的纸浆滤片立即浸入含0.2%氯化钠的0.015mol/L磷酸-柠檬酸缓冲液内，并同硫酸铵分级一样抽提2次。必须维持低温直至活力部分溶于磷酸-柠檬酸缓冲液中。乙醇在0.1，0.15和0.20mol/L部分的悬浮液常常呈胶状，并很快堵塞滤片，需要换1次或更多的新滤片以维持快速过滤。如果采用合适厚度的滤片，4l乙醇悬浮液可在1小时内滤好。

沉淀溶于磷酸-柠檬酸缓冲液中，测定氨基氮，蛋白氮和酶活力。每批约4L酶液在0.015mol/L磷酸-柠檬酸缓冲液含0.9%氯化钠（pH5.0）蛋白氮含量为0.16mg/mL。每L含透明质酸酶350000U，比活2000U/mgN。

贮存 ＋4℃干燥保存。

参 考 文 献

〔1〕 Freeman M. E., et al: *J. Biol. Chem*, 180, 665(1949).

异柠檬酸脱氢酶（猪心） Ⅱ-2(1)-0036

Isocitric dehydrogenase(NADP)

别名 ICDH; threo-Ds-Isocitrate; NADP$^+$oxidoreductase 〔decarboxylating〕

EC 1.1.1.42

酶反应

threo-Ds-异柠檬酸盐 + NADP$^+$ $\rightleftharpoons$ α-酮戊二酸盐 + HCO_3^- + NADPH + H^+

单位定义 在25℃，pH7.4，1分钟使340nm的O. D. 产生0.01的酶量为1单位。

理化性质 ICDH用于在L-苹果酸存在下测定异柠檬酸。α-酮戊二酸盐是非竞争性抑制底物（K_i 480；异柠檬酸盐也表现在高水平底物抑制。

NADP-异柠檬酸脱氢酶在低离子强度下是相当的不稳定的。冻干粉宜溶于50%(v/v)甘油中。

制备方法[1] 所有与酶接触的溶液(包括硫酸铵溶液)含0.3mmol/L二巯基苏糖醇（DTT），所有操作在0～4℃进行。

1. 组织 从屠宰场采得猪心放在冰上运回实验室。室肌尽快去除脂肪和结缔组织称重，切成1cm片状。经绞肉机充分绞碎后，每1g组织要加4mL溶液(含0.88mol/L蔗糖，1mmol/L EDTA和0.3mmol/L二巯基苏糖醇)。混合物打成匀浆。

2. 离心 匀浆离心（1000g，10分钟），沉淀弃去。上清液离心（40000g，1.5小时），沉淀弃去。

3. 第一次硫酸铵分级 上清液慢慢加入适量容积的3.75mol/L硫酸铵使溶液浓度达1.5 mol/L(0.33饱和度)。搅拌10分钟后，加入足够量固体硫酸铵使溶液达0.50饱和度。搅拌15分钟，离心（10000g，10分钟)。沉淀弃去。上清液加入固体硫酸铵使达0.80饱和度。搅拌2小时后，离心（15000g，15分钟)。立即测上清液酶活力，如仍有明显活力，在0℃再搅拌0.5～1小时，重新离心。弃去上清液，沉淀溶解于0.33饱和硫酸铵，搅拌15分钟。

4. 第二次硫酸铵分级 不溶于33%饱和溶液的蛋白质离心（10000g，10分钟）除去。蛋白溶液加以固体硫酸铵使达0.70饱和度。离心（10000g，10分钟)，沉淀溶于2.0mol/L硫酸铵。在此情况下，酶液放置在0℃数月仍稳定。有时得到浑浊悬浮液，则加入少量5mmol/L磷酸盐、15mmol/L氯化钾、1mmol/L EDTA和0.3mmol/L DTT此时溶液pH7.0待蛋白全部溶解后，再加到Sephadex G-25柱上。

5. 羧甲基纤维素层析 酶溶液在Sephadex G-25柱脱盐。所用溶液含15mmol/L氯化钾，5mmol磷酸盐、1mmol/LEDTA和0.3mmol/L DTT此时溶液pH7.0。脱盐蛋白液立即加到CM-纤维素柱上（2×12cm，预先用上述缓冲液平衡过）。加入附加的缓冲液，洗出液部分测O. D.$_{280nm}$。当它回到缓冲液基线时，缓冲液的氯化钾浓度增至0.1mol/L以洗脱有酶活的蛋白。原始活力的60～85%和蛋白质的2～3%被分离。比活从170～200U/mg增加到5000～6000U/mg。有活性部分用牛血清白蛋白补充至2mg/mL，并保藏于+4℃。

参 考 文 献

〔1〕 Lowenstein J. M: "Methods in Enzymology", Vol. XIII, Academic Press, New York and London, 30,1969.

激肽释放酶（猪胰） Ⅱ-2(1)-0037

Kallikrein

别名 Pig pancreatic Kallikrein；PPK；激肽原酶；Kininogenase；Kininogenin

EC 3.4.21.8

分子量 25200（以沉降常数 s 计算）

33800（283氨基酸和19～21糖残基计算）

酶反应

激肽释放酶＋激肽原⟶激肽

单位定义 在酸度计测定的条件下，1分钟分解1μmol 的N-α-苯甲酰-L-精氨酸乙酯（BAEE）的酶量为1单位。

理化性质 激肽释放酶是一种糖蛋白，在正常人体中以其无活性前体——前激肽释放酶形式存在，它与激肽释放酶抑制剂以及激肽水解酶一起共同组成激肽体系、彼此相互制约，维持了人体激肽的正常量。

激活剂 有Na^+，K^+，Li^+，Rb^+或Ca^{2+}。

抑制剂 有重金属离子如Co^{2+}，Hg^{2+}，Cu^{2+}，Ni^{2+}和Mn^{2+}。但Ca^{2+}和Mg^{2+}对抑制没有影响。各种激肽释放酶被某些胰蛋白酶抑制剂所抑制。

稳定性 保存酶于水或磷酸缓冲液（pH8.0）中，虽然溶液大部分时间维持在结冻状态，也不能避免活力逐渐损失至约500KU/mg蛋白。

制备方法[1]

1. 抽提 新鲜猪胰保存于－20℃。腺体（500g）解冻，剔除杂质后用绞肉机绞碎。悬浮液在15～25℃自溶18～24小时。加入蒸馏水（2500mL），混合物pH用6mol/L盐酸调至6.0。混合物在室温搅拌5小时，在55℃加热5分钟，冷至室温，pH用10mol/L盐酸调pH至4.5。悬浮液在冰浴中冷却，在搅拌下滴加1/3容积的丙酮（30%v/v），这有助于过滤。沉淀尽快用布氏漏斗过滤（4℃）除去。上清液含50～75000KU，纯度0.4～1KU/mg。

2. DEAE-纤维素分批吸附 上述上清液相当于100g的抽提液用20倍自来水稀释，加入3.0g DEAE-纤维素。悬浮液的pH用1mol/L氢氧化钠调节至7.0，混合物在10～20℃剧烈地搅拌2小时，需要时pH重新调节。过滤，回收吸附剂，将其移至小的玻璃漏斗内，用约60mL 0.6mol/L甲酸铵（pH6.0）洗脱。DEAE-纤维素吸附的滤液不含酶活力，而80%或更多的酶能从洗脱物中回收，其中还附有4%不可透析的固体。重复此步骤直至所有上清液被吸附和从DEAE-纤维素上洗脱下来。

3. 2-乙氧基-6,9-二氨基吖啶乳酸盐(acrinol)沉淀 将上述洗脱物合并，用1mol/L甲酸调pH至5.0。溶液在冰浴中冷却，在剧烈搅拌下加入30mL 3%(w/v)acrinol水溶液。悬浮液置4℃平衡4小时，上漏液离心（10000转/分钟，15分钟，4℃）。上清液用1mol/L氢氧化铵调节至pH7.8，加入45mL acrinol溶液，混合物置4℃过夜。沉淀含活力，在冰浴中用0.01mol/L乙酸铵（pH8.0）洗涤，用125mL 0.6mol/L乙酸铵，pH4.5下搅拌抽提30分

钟，用50mL 0.6mol/L乙酸铵，在pH4.5下搅拌抽提30分钟。离心后，合并黄色上清液，在冰浴中冷却，搅拌滴加入3倍容积的丙酮使沉淀。悬浮液置4℃过夜，离心收集沉淀，用丙酮洗涤，在室温短时间地干固以除去痕量丙酮，并溶于蒸馏水中。浅黄色溶液含50～80%原来活力和10～15%不可透析的固体。

4．pH4.2时的沉淀　上述水溶液用1mol/L乙酸调pH至4.2，悬浮置4℃，2小时。所形成的失活沉淀离心除去（10000转/分钟，15分钟，4℃）。上清液立即用1mol/L氢氧化钠调至pH6.5，含50～70%酶活力和15～40%不可透析的固体。纯度平均提高2倍或更多。

5．丙酮沉淀　加入乙酸钠和氯化钠至上清液中，使其最后浓度相应为0.065mol/L和0.035mol/L。溶液pH用5mol/L氢氧化铵调节至7.5，加入2倍容积的丙酮使沉淀（条件同3.）。沉淀悬浮于最少量的蒸馏水中，结冻或冻干得60mg(A_{280}/mg0.6)。在以后的纯化步骤中，产品不能干燥，因为在这些条件下它不稳定。

6．羟基磷灰石柱层析　上述5.中得自三批500g猪胰的浓溶液加入1.6×25cm羟基磷灰石柱，柱预先以0.01mol/L磷酸钠缓冲液（pH6.8）平衡。柱用60mL同样缓冲液洗之。采用梯度洗脱：0.01～0.15mol/L磷酸缓冲液（150mL恒定容积混合器），流速6.0mL/h，5.0mL/管分部收集。酶活力被洗脱呈一峰（第5峰）在0.08～0.1mol/L缓冲液中，回收60～80%活力，纯度700～1000KU/A_{280}。

7．Sephadex G-100凝胶过滤　合并上述有活力部分装入透析袋中，在合适容器内以Sephadex G-100围在透析袋外面。上面用一平板盖着，压上重量以增加除水速度。4℃，4小时后，透析袋内液体积减小（如果需要，取出潮的Sephadex，换上新鲜的），至1～3mL为止。

浓酶液在4℃注入2.5×40cm Sephadex G-100柱中，用180mL蒸馏水洗柱，流速12mL/h，每管收集4mL。酶活力洗脱呈一主峰（50～70mL流出液），可用上述方法浓缩。最后产物代表80%原始活力，纯度1200KU/A_{280}，产率5～8%，提纯2000倍。

用途　激肽释放酶有血管舒张作用，能降低血压，扩张末梢血管及冠状动脉，临床主要用于治疗高血压、脑动脉硬化及闭塞性血管炎等症。

贮存　本法制得的酶在干燥状不稳定，要在Tris缓冲液中，结冻保存。高纯酶制剂干燥保存于-20℃能放数月；在pH7～9.5，20℃至少稳定5小时，甚至在pH4.4，1小时，酶活也只有很少损失。

参 考 文 献

〔1〕 Perlmann G. E. and Lorand L.: "Methods in Enzymology", Vol. XIV, Academic Press, New York and London, 694, 1970.

乳 酸 脱 氢 酶　　Ⅱ-2(1)-0038

Lactate dehydrogenase

别名　LDH；LAD；LD；L-Lactate：NAD^+ oxidoreductase

EC　1.1.1.27

分子量　136 700(牛心，四聚体)；35000(牛心，亚基)140000(兔肌)

酶反应

$$\text{丙酮酸盐} + NADH^+ \rightleftharpoons \text{乳酸盐} + NAD + H^+$$

单位定义 在25℃，pH7.3，1分钟氧化1μmol NADH的酶量为1单位。

理化性质 LDH是一种普遍存在的与代谢有关的酶。哺乳动物LDH由两个不同的亚基结合组成，以五种四聚体的同工酶存在。这些同工酶在催化、物理和免疫性能方面是不同的。亚基以“H”和“M”表示，形成H_4，M_4，H_3M，H_2M_2和HM_3。在心肌中“H”亚基占优势，心肌适合于丙酮酸的需氧的氧化。在骨骼肌和肝中“M”亚基占优势，它与厌氧代谢和丙酮酸还原有较大关系。

稳定性 4℃保存。

理化参数 $A_{280}^{1\%}$14.9(牛心)；8.8(兔肌)。

制备方法[1] 材料为猪或牛心。从已宰动物身上取出，立即用冰保藏，运回后，马上操作。

1．磷酸钙凝胶(现配现用) 4kg磨碎心肌抽提液所需凝胶量制备如下：1L0.44mol/L磷酸氢二钠在搅拌下，快速加入至1L0.66mol/L氯化钙。混合物加浓氨水（需25～28mL）以调pH至8.2～8.6，并用倾泌法用大量水洗涤直至洗涤的水不含氯离子（通常用20～25L洗5或6次；前几次用自来水）。凝胶悬浮于约3L水中，冷至5℃。以下操作，包括离心，在5℃下进行。

2．酶的吸附与洗脱 整理好的肌肉在一细孔绞肉机中绞碎，再用少量水在组织捣碎器内捣30秒。每批4kg碎肉浆和10L水搅拌15～30分钟。两层纱布过滤，然后，重新用5L水抽提。再次挤干后，合并红色浑浊抽提液（容积约14.5L）并与磷酸钙混胶混合。搅拌10分钟后，凝胶放置，使沉下，倾泌上清液后，离心(600×g，15分钟)收集凝胶。用1.3L0.2mol/L磷酸缓冲液（pH7.0）洗脱酶。凝胶离心（600×g，15分钟）取出，并用600mL磷酸缓冲液搅拌1次。再离心以后弃去凝胶。

3．纯化 合并洗脱液（容积约1.9L）用固体硫酸铵（42g/100mL洗脱液）处理，所得沉淀离心(1400×g，1.5小时)。或者用0.40硫酸铵溶液加到125mL，沉淀用折叠滤纸过滤。约需6～12小时，在冰库过滤，过夜。沉淀溶于200mL0.1mol/L磷酸缓冲液（pH7.0）中，产生棕色溶液约325mL。不溶物离心除去。冷却至0℃，加入0.6倍容积的冷(－15℃)丙酮，混合物放置10℃10分钟。离心（1400×g，30分钟），沉淀常常在两层当中形成。小心倾去液体，沉淀和140mL0.21硫酸铵搅拌10分钟。悬浮液离心（1400×g，30分钟），上清液(容积约140mL）用固体硫酸铵（13g/100mL)处理。离心(10000×g，15分钟)，沉淀溶于水，得35～45mL黄色溶液。冷至0℃并与0.6倍容积丙酮（－15℃)混和。混合物在20℃放置10分钟，离心（1400×g，1小时)；或10000×g，10分钟。沉淀充分地分散在21%硫酸铵中，最终容积为15～20mL，所得悬浮液对1L0.21硫酸铵透析12小时。

4．结晶 透析袋内溶液离心（10000×g，15分钟)；得到几乎无色的清溶液，用固体硫酸铵（40mg/mL）在离心杯内处理，并立即离心（20000×g，0℃，3分钟)。上清液可能稍浑，倾入另一个杯内，10分钟滴加室温饱和硫酸铵直至加入量相当于0.1mL/0.1mL酶液。置5℃，1或2小时，结晶离心（10000×g，20分钟）收集。

5．重结晶 把结晶溶于最小量的0℃水中，在5～10℃搅拌下，用20分钟加固体硫酸铵（350mg/mL)。产量约20～30mg(3次重结晶品)。结晶可溶于7～21%硫酸铵或0.2mol/L磷酸缓冲液（pH7.4）中，并保存于0℃。

结晶形状为细针状。上述溶液放置6～8周不丧失活失。结晶酶较原肌肉抽提液活力提高90～130倍。

结晶酶在超离心下（分子量100000～150000）是均一的，而电泳观察则揭示含12～15%

杂质。

参 考 文 献

〔1〕 Ball E. G.: "Biochemical Preparations", Vol. 2, 18, 1952.

乳过氧化物酶(牛奶)　　Ⅱ-2(1)-0039

Lactoperoxidase

别名 LPO; Donor: hydrogen peroxide oxidoreductase

EC 1.11.1.7

分子量 77500

酶反应

$$2I^- + H_2O_2 + 2H^+ \longrightarrow I_2 + 2H_2O$$

单位定义 在25℃，pH7.0，1分钟产生1μmol三碘化物的酶量为1单位。

理化性质 LPO是具有一氯高铁血红素辅基的糖蛋白。含铁0.069%，和氮15.56%。LPO催化许多酚和芳香胺的氧化。可能有两个同工酶A和B。抑制剂有氰化物和肼。

理化参数 pI6.8等离子点pH9.6。$\lambda_{最高}$412nm$A_{412}^{1\%}$13.9，A_{412}/A_{280} 0.93～0.96。纯品1.0 g/L测A_{412}，1.390；A_{280}，1.541。ν0.74；ζ为5.2×10^{-7}。

制备方法[1]

一、硫酸铵法

1. 乳清　50L脱脂牛奶的酪蛋白用犊胃膜在室温凝聚，并通过细布袋与乳清分离。

2. 硫酸铵分级　乳清加固体硫酸铵至达最后浓度为2.8mol/L(pH6.0)以沉淀蛋白，在3℃过滤过夜。沉淀重新溶于水中使蛋白浓度为3%。加四硼酸钠至0.1mol/L，硫酸铵至1.5mol/L，沉淀过滤除去。滤液的盐浓度从1.5mol/L增加至1.9mol/L，在3℃过滤，除去沉淀。在1.9mol/L滤液中的所有过氧化物酶在2.5mol/L硫酸铵沉淀。上述沉淀重溶于0.1 mol/L硼砂溶液使蛋白浓度达2%，加硫酸铵至1.9mol/L。1.9mol/L滤液加盐至2.3mol/L。在室温放置1小时后，有一棕绿色、粘性的饼浮在盐溶液的表面。通过玻璃毛过滤，过量的硫酸铵溶液从沉淀中除去，方法是把沉淀揉搓成一个球。

3. 层析　以0.5mol/L磷酸二氮钾调pH至中性，膜内酶在连续搅拌下对20倍水透析2小时，这样粗酶硫酸铵浓度降至0.02mol/L面活力仅损失10%。稀释至最后蛋白浓度为2%，在0.1mol/L磷酸氢二钾pH9）中。

先用磷酸钙凝胶柱提到半纯。最后用硅藻土柱提纯。

（1）磷酸钙层析。几根玻璃柱，4×50cm，每根用30～40g磷酸钙装柱（计算量浓度的氯化钙和磷酸氢二钠合并，用氢氧化铵使之对酚酞显碱性。凝胶通过倾泌法洗涤使之不含Cl^-，约历时1周，过滤，在70℃干燥过夜。球磨成能通过90目筛的粉）。流速1～3mL/min。压力$0.6\sim1\times10^5$Pa。

把蛋白液通过磷酸钙柱，加流出液有酶活则再通过第二个根，直至流出液不含过氧化物酶为止。大约总蛋白的3/4流过柱并出现在最后滤液中。柱用0.1mol/L四硼酸钠洗涤直至硼酸滤液不含蛋白为止。用0.5mol/L磷酸盐洗脱柱，洗脱物中，过氧化物酶纯度提高25倍。

进一步纯化，将0.5mol/L洗脱物稀释至0.1mol/L盐和0.2%蛋白，再通过磷酸钙柱过滤。此步只需用前次所用柱数的一半。柱用硼酸盐洗涤后，过氧化物酶再用0.5mol/L磷酸

氢二钾洗脱，得到一部分具有最高纯度的半纯的制品。

（2）硅藻土层析。合并洗脱物，稀释至磷酸盐浓度为0.1mol/L,通过由2份硅酸与1份硅藻土的柱，压力是$0.6\sim1\times10^5$Pa。20mg蛋白对1g吸附剂，30g柱的3/4长以酶饱和。乳过氧化物酶和一红蛋白被吸附。用0.5mol/L磷酸盐洗脱酶，而红色蛋白则可用1mol/L磷酸氢二钾从柱上洗脱下来。柱可以用水再生。合并相当纯度部分，$A_{412}/A_{280}=0.9$。

4．结晶　上述所得酶制品为红～黑色0.5mol/L磷酸氢二钾酶溶液。在室温加4mol/L磷酸氢二钾至最后浓度为2.5mol/L使沉淀，用0.5g硅藻土(A. R.)/10mL溶液助滤，抽气过滤。酶用1mol/L磷酸氢二钾洗脱，加足够量的4mol/L磷酸氢二钾，以形成稍许浑浊（2.2mol/L）。加入硅藻土（0.2g/10mL溶液），沉淀过滤除去。滤液保存于烧杯中，上盖滤纸，置5℃保存。几周后结晶形成。结晶酶在浓磷酸盐溶液中一年内稳定。

硫酸铵法中100L脱脂牛奶分离步骤总结

部　分	蛋白，g	比活 焦性没食子酸测试	比活 A_{412}/A_{280}	产率，mg
乳清	715	0.049		2870
2.3mol/L硫酸铵沉淀	207	1.09		1850
$Ca_3(PO_4)_2$柱上0.5mol/L K_2HPO_4洗脱				
第一次洗脱物	4.4	27	0.19	974
第二次洗脱物	1.6	58	0.42	764
硅藻土柱0.5mol/L K_2PO_4洗脱				
第四次洗脱物	0.5	122	0.9	500
从2.2mol/L K_2HPO_4中结晶	0.25	122	0.9	250

二、层析法[2]

1．分离　弱阳离子交换树脂如IRC50或Bio Rad70，200～400目，洗去细颗粒。树脂用磷酸缓冲液缓冲至pH7。树脂悬浮于0.01mol/L磷酸缓冲液（pH7）中，装进柱（直径30cm，高10cm）中。脱脂生奶用6mol/L乙酸或6mol/L氨水调至pH6.9～7.0，在4℃倒在树脂床上。流速约4L/h。40L奶流过柱后，树脂用5～10L冷蒸馏水洗。当大部分过量牛奶被除去后，树脂用蒸馏水洗进大烧杯中.装入柱〔10cm（直径）×30cm（高）〕中。柱用蒸馏水洗，直至不含280nm吸收物质。蛋白用0.5mol/L乙酸钠从树脂洗脱下来。用分部收集器收集洗脱物（每份1L）。当乙酸钠流进柱，一深绿色乳过氧化物酶区带开始往下移动，逐渐增宽。含乳过氧化物酶部分收集在约2～4L。合并后在4℃搅拌下，加入硫酸铵（52g/100mL溶液）。混合液放置至少2小时，离心（20000g，30分钟）收集沉淀。沉淀悬浮于最小量蒸馏水中，对pH调至7.35的0.02mol/L乙酸钠透析（至少换三遍）。酶液离心除去少量沉淀。粗乳过氧化物酶的A_{412}/A_{280}为0.3～0.5。

2．粗酶的纯化　一根2.5×40cm柱，装上离子交换树脂，在pH7.35平衡。对pH7.35缓冲液透析好的粗酶250mg上柱，吸附呈绿色区带。柱壁用稀缓冲液冲洗，柱连到线性梯度系统。混合瓶含450mL开始的缓冲液，第二个瓶于含450mL0.35mol/L乙酸钠。调节系统使流速为60mL/h，每份10mL。5小时后，混合瓶内换成480mL0.35mol/L乙酸钠和另一个瓶换成0.5mol/L乙酸钠。当乳过氧化物酶全部洗脱后，柱用1mol/L乙酸钠洗脱，除去所有留在柱上的蛋白。用开始的缓冲液平衡后，柱可以再用。合并乳过氧化物酶部分，超滤浓缩或用硫酸铵（52g/100mL）沉淀。沉淀重溶解后，再对所需缓冲液透析。

最后纯化采用Sephadex G-100,或Bio-gel P-100凝胶过滤以除去痕量的杂蛋白。5mL浓缩纯化酶液，通过Sephadex柱(直径2.5cm×高45cm)，柱预先用0.05mol/L 磷酸缓冲液(pH7.5)平衡。取高活力部分。用上法制得的酶，其A_{412}/A_{280}约0.9，以免疫化学和电泳测定检测不含杂蛋白。

用途 LPO用于蛋白质的碘化作用。

参 考 文 献

〔1〕 Colowick S. P. and Kaplan N. O.:"Methods in Enzymology", Vol. Ⅱ, Academic Press, New York and London, 813,1955.

〔2〕 Tabor H. and Tabor C. W.:"Methods in Enzymology", XVII A, Academic Press, New York and London, 653,1970.

白氨酸氨肽酶(猪肾，胞液) Ⅱ-2(1)-0040

Leucine aminopeptidase(cytosol)

别 名 LAP; Aminopeptidase〔cytosol〕; α-Aminoacylpeptide hydrolase〔cytosol〕

EC 3.4.11.1

分子量 255000±5000；亚基53000

酶反应 LAP是肽链外切酶，它从一些蛋白或多肽的N-末端释放出氨基酸。很多酰胺和硫酯也被它水解。它对白氨酸残基水解最快。

单位定义 在25℃，pH8.5，1分钟水解1μmol L-白氨酰胺的酶量为1单位。

理化性质 LAP含有4个亚基，每个亚基有1个锌原子。激活剂为Mg^{2+}或Mn^{2+}。抑制剂有Cd^{2+}，Cu^{2+}，Hg^{2+}，Pb^{2+}，EDTA，醇类和对氯汞苯甲酸。

理化参数 最适pH9.1(Mn^{2+}激活的酶)。

最适范围在pH7.8～9.0。

制备方法[1]

1. 匀浆 4kg猪肾从屠宰场预冷(-70℃)置4℃解冷过夜。剖开除去结缔组织等杂质，在组织捣碎器中和12L 0.04mol/LTris-0.005mol/L琥珀酸-0.001mol/L氯化镁-0.25mol/L蔗糖捣碎30秒。在不断搅拌下加入600mL10%(W/V)十六烷基三甲基铵溴化物(CETAB)至匀浆中。经去垢剂处理的匀浆离心(2300转/分，4℃)。CETAB上清液含有肾的白氨酸氨肽酶。应该注意加去垢剂的量应与制备匀浆所用肾量成比例。如加入过量，上清液呈棕色而不是粉红色。此时酶被纯化，沉淀必须弃去。

2. CETAB上清液的交换过滤 DEAE-纤维素DE-23约25g装柱(8.5×25cm)。用0.04mol/LTris-0.005mol/L琥珀酸-0.001mol/L 氯化镁(pH8.6)平衡。注入上清液，流速2.4L/h。柱用2L上述缓冲液洗涤。如果操作时颜色带开始出现歪斜(由于吸附床上部表面积聚了脂肪性物质形成一结实层)，应该用一根棒搅动吸附剂的上部再使它沉好后，再操作。吸附在柱上的酶用2L含0.2mol/L氯化钠的0.04mol/LTris-0.005mol/L琥珀酸-0.001mol/L氯化镁缓冲液(pH8.6)洗脱。洗脱物按200-mL分部收集。测定后将有活性部分合并(离子交换滤液)。

3. 硫酸铵沉淀 660mL活性部分在4℃搅拌加入207g硫酸铵。溶液放置10分钟后离心(10000g，10分钟)。上清液含原来活力的90%，搅拌下加入149g硫酸铵，溶液放置10分

钟再离心(10000g，30分钟)。第二次沉淀溶于100mL缓冲液中，它含约原来的酶活力80%。

4. Sephadex G-200柱层析　可以采用Pharmacia公司K100/150型柱，内装5~6L Sephadex G-200。但是，把样品分几部分上几根小柱更好。如果用2.5×135cm柱，重溶解的硫酸铵沉淀分为2~60mL部分，上柱前先以0.01mol/L Tris-0.0025mol/L盐酸-0.001mol/L氯化镁(pH8.6)平衡柱。上柱流速15mL/h，收集120份6mL部分。酶活力在280nm吸收主峰之前出现，测定活力并收集有活性部分。

5. 梯度层析　上述有活性部分上DEAE-纤维素DE-23柱(0.9×26cm床)，预先用0.04mol/LTris-0.02mol/L琥珀酸-0.001mol/L氯化镁(pH7.4)平衡，流速66mL/h，4℃。用80mL上述缓冲液洗柱，用800mL线性梯度0.05mol/L琥珀酸-0.11mol/L Tris-0.001mol/L氯化镁(pH7.2)溶液洗脱。有几个峰具有酶活力，合并这几个有活性部分再进行分离，直至梯度完毕被除去的杂质仍然结合在柱上。

6. 纯化酶的浓缩　纯酶可以用冷冻干燥法从0.01mol/L乙酸铵中浓缩或用DEAE-纤维素吸附。此法分次洗脱如下：将5中合并部分用1mol/LTris调pH至8.6，然后稀释至原来体积的1.5倍。通过一个床体积为2g的DEAE-纤维素DE-32柱，柱预先用0.04mol/L Tris-0.005mol/L琥珀酸-0.001mol/L氯化镁(pH8.6)平衡。酶用0.4mol/L氯化钠在同样缓冲液中一步洗脱。回收率90%，总体积少于2mL。

贮存　+4℃保存。

参考文献

〔1〕 Perlmann G. E., and Lorand L.: "Methods in Enzymology", Vol. XIX, Academic Press, New York and London, 508, 1970.

白氨酸氨肽酶M(猪肾，微粒体)　Ⅱ-2(1)-0041

Leucine aminopeptidase M(microsomal)

别名　Aminopeptidase M; Particle-bound aminopeptidase; α-Aminoacyl-peptide hydrolase〔microsomal〕

EC　3.4.11.2

分子量　约280000(G-200凝胶过滤)

酶反应

$$\underset{\text{L-氨基酸对硝基苯胺酯}}{R-CH(NH_2)-CONH(C_6H_4-NO_2)} \xrightarrow{H_2O} \underset{\text{L-氨基酸}}{R-CH(NH_2)-COOH} + \underset{\text{对硝基苯胺}}{H_2N-C_6H_4-NO_2}$$

测定37℃时405nm光吸收增加。

单位定义　在37℃，1分钟产生1μmol对硝基苯胺的酶量为1单位。

理化性质　纯酶冷冻干燥并不会损失活力，如果盐浓度低的酶液也能真空蒸发浓缩。65℃保温不致失活。70℃110分钟，50%酶活力损失。室温中性，酶稳定3小时以上，pH小于3和大于11.5引起迅速变性。尿素浓度6mol/L以下室温保温100小时不使此酶变性。0.5mol/L胍引起不可逆变性。加入醇类也如此。碳链增加，引起此酶变性所需的浓度更小，如要在1小时有50%变性所需甲醇量为正丁醇的3倍。紫外吸收显示蛋白光谱。

理化参数　A_{280}/A_{260}为1.8

制备方法[1]　猪肾(2900g)捣碎于0.1mol/LTris-HCl缓冲液(pH7.3)(9L)中，在2℃

搅拌30分钟。离心（3000×g，15分钟），上清液用乙酸调至pH5.0，离心（3000g，20分钟）。沉淀悬浮于0.1mol/LTris-HCl缓冲液（pH7.3）中，稀释至约6L。慢慢加入2L甲苯，悬浮液在38～40℃捣碎30分钟，在2℃搅拌过夜。悬浮液离心（12000g，1小时）。可以看见4层。最顶一层是甲苯，第二层是固体（白至浅黄色）。其下是水层，而在管子底部有非常小量的沉淀。用过滤泵很易除去甲苯和水层，而第二层的固体可从管中刮出。这层含有酶，悬浮于0.01mol/L-Tris-HCl缓冲液(pH7.3)(最终体积900mL)中。加入固体胰蛋白酶（20mg/100g肾），悬浮液37℃保温1小时，然后冷至4℃。硫酸铵加到最终浓度为0.20饱和度，悬浮液离心（12000g）。上清水溶液含50～65%总酶活力，加固体硫酸铵至约0.80饱和度，离心。沉淀溶于30mL0.06mol/L磷酸缓冲液（pH7.3）中，进一步以硫酸铵分级沉淀纯化，取0.60～0.80饱和部分。酶溶液（总体积30mL）上Sephadex G-50柱去盐（3×70 cm），经0.02mol/L磷酸缓冲液(pH7.3)平衡，然后，直接在室温吸附上DEAE-Sephadex A-50(柱1.5×30～40cm）柱，柱预先用0.02mol/L磷酸缓冲液（pH7.3)平衡。酶活力用氯化钠梯度洗脱（从0增加至0.3mol/L），酶在约0.15～0.2mol/L氯化钠中。酶在冷室反复沉淀，取0.65～0.80硫酸铵饱和部分，直至比活不再增加为止。

通过凝胶过滤，上Sephadex G-75粗柱，用0.1mol/L碳酸氢铵(pH7)洗，以L-白氨酸对硝基苯胺作底物，比活可增至66。

猪肾氨肽酶M的分离

分离步骤	总活力,U	比活,U/mg(以白氨酸对硝基苯胺测定)	提纯倍数
2900g肾捣碎，抽提，离心，上清(悬浮液)	26200	0.177	1
从pH沉淀得沉淀物重悬浮于0.1mol/L Trit,pH7.3	22000	0.33	1.9
经甲苯和胰蛋白酶处理，硫酸铵0.20～0.80饱和度分级沉淀	14200	3.3	19
硫酸铵0.60～0.80饱和度重新沉淀	14000	20.7 免疫电泳分析三条带	120
从DEAE-Sephadex 0.2mol/L氯化钠洗脱物	8100	31 免疫电泳分析二条带	175
反复以硫酸铵重沉淀	5000	37 免疫电泳分析一条带	210

参 考 文 献

〔1〕 Perlmann G. E. and Lorand L.; "Methods in Enzymology", Vol. XIX, Academic Press, New York and London, 514, 1970.

脂肪酶（猪胰） Ⅱ-2(1)-0042

Lipase

别名 Triacylglycerol lipase; Triacylglycerol acylhydrolase

EC 3.1.1.3

分子量 45000～50000

酶反应 脂肪酶催化甘油和长链脂肪酸的乳化酯的水解。

单位定义 在25℃，pH 8.0，1分钟从乳化橄榄油中释放出1μmol脂肪酸的酶量为1单位。

理化性质 猪胰脂肪酶对一级酯基团最易水解。甘油单酯是差的底物。此酶是一糖蛋白，有两个差不多相同的同工酶，脂肪酶A与B。激活剂为Ca^{2+}；抑制剂有EDTA，I_2，对氯汞苯甲酸（PCMB），Zn^{+2}，Cu^{2+}，和Hg^{2+}。

理化参数 pI：脂肪酶A4.9，B5.0。$A_{280}^{1\%}$13.3。

制备方法[1] 3kg冷冻的猪胰脏在绞肉机中很细心地加以绞碎，并在混合器中用三氯甲烷-丁醇（9:1，v/v）混合均匀。将相应的胰脏糊状物于室温搅拌30分钟，排出含有三氯甲烷的液层，残渣于室温进一步搅拌2次，每次加三氯甲烷-丁醇（9:1，v/v）3L搅拌30分钟，分离出溶剂。将此潮温的残渣单独置4℃，48小时，随即将此大量地脱脂组织再搅拌2次，每次加丙酮1.5L搅拌15分钟，每次都倾出上清液。

为了提取脂肪酯，将全部的脱脂的物料搅拌2次，每次加水-乙醇（95:5，v/v）1.5L搅拌30分钟，然后将溶液通过金属筛过滤。合并水和乙醇提取液，冷冻干燥以除去溶剂，将已干燥的多孔物粉碎过筛。

得量365g（按潮湿的器官计，收率为12%）。脂肪酶活力约250WillstatterU/g，相当于110000FIPU/g微黄色粉末。

参 考 文 献

〔1〕 颜凯(译自U. S. Patent：3925158，1975)：生化药物杂志，31，66(1985)。

虫 萤 光 素 酶　　Ⅱ-2(1)-0043

Luciferase (*photobacterium fischeri*)

别名 Alkanal reduced-FMN-oxygen oxidoreductase (1-hydroxylating, luminescing)

EC 1.14.14.3

分子量 约80000

酶反应

$$FMNH_2 + RCHO + O_2 \longrightarrow FMN + RCO_2H + H_2O + \sim 0.2h\nu 495nm \text{（光）}$$

理化性质 此酶对$FMNH_2$是专一的。醛不是反应所必需的，但对发光有动人的效应。此酶由两个亚基，α和β所组成，每个亚基分子量为40000。抑制剂有SKF 525，对氯汞苯甲酸和核黄素。

理化参数 最适pH6.8。$A_{280}^{0.1\%,1cm}$0.94

制备方法[1] 采用*Beneckea harveyi*细菌。细胞在250L New Brunswick Fermacell发酵罐中发酵，收集并保存于－20℃。细胞浆在4℃，解冻过夜，和1:1(w/v) 3%氯化钠混和，使之渗压溶开，100g细胞/L低离子强度缓冲液(8×10^{-3}mol/L Tris，5×10^{-4}mol/L二巯基苏

糖醇(DTT)。30分钟后，直接加入DEAE-纤维素（Whatman DE-32，磷酸型），其比例为每升溶菌产物中含有100mLDEAE-纤维素。调其pH至6.7±0.5后，使吸附30分钟，在一大布氏漏斗上真空过滤，用100mL水洗2次，用0.15mol/L磷酸缓冲液（pH7.0）洗5次，每次100mL。虫荧光素酶可分批洗脱，用5次100～200mL的0.35mol/L磷酸缓冲液（pH7.0）洗，并取硫酸铵饱和度为0.40～0.75的沉淀部分。虫荧光素酶悬浮于最少量的0.25mol/L磷酸盐，5×10^{-4}mol/L DTT，1×10^{-3}mol/L EDTA，pH7.0中，并对同一混合液透析。以上步骤在0～4℃中进行。DEAE-纤维素再生：0.2mol/L氢氧化钠洗，水洗至中性；0.2mol/L磷酸，水洗；0.1mol/L磷酸缓冲液（pH7.0）洗，并保存于水中。新的DEAE-纤维素要重新处理一遍再使用。

虫荧光素酶浓度可用分光光度法测定，基于其分子量为79000和在280nm的吸光系数为0.94(0.1%，1cm)。

用途 细菌虫荧光素酶和NAD(P)H：FMN氧化还原酶一起用于NAD(P)H的测定也用于形成或消耗NAD(P)H的反应中。

贮存 －20℃。＋4℃干燥保存，12个月内活力可下降约20%。

参考文献

〔1〕 Baldwin T. O., et al: J. *Biol. Chem.* 250,2763(1975).

溶菌酶（鸡卵清） Ⅱ-2(1)-0044

Lysozyme

别名 胞壁质酶；Muramidase；Mucopeptide；*N*-acetylmuramoyl hydrolase

EC 3.2.1.17

分子量 14300

酶反应

$$R-R'+H_2O \rightleftharpoons RH+R'-OH$$

单位定义 在25℃，pH7.0，1分钟引起*Micrococcus lysodeikticus* 细胞悬浮液在450nm的浑浊度下降0.001的酶量为1单位。

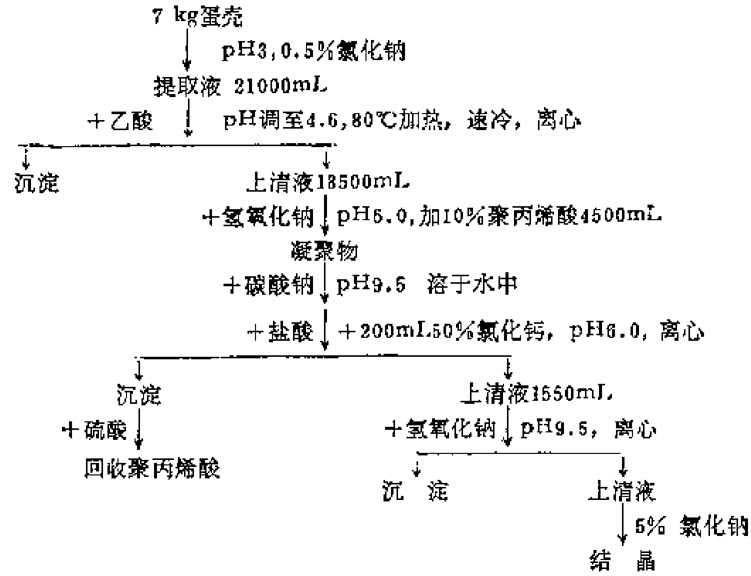
理化性质 棒状晶体。分于结构系由130个氨基酸连结成的多肽链，并含有20个氨基酸组成的环多肽。它是碱性蛋白质、糖苷水解酶，能催化粘多糖中*N*-乙酰氨基葡糖与*N*-乙酰胞壁酸间的β(1-4)糖苷键的水解。

在酸性中pH稳定，碱性易失活。耐热性96℃，15分钟仍保留87%的活力（pH3），但在碱性条件下，随温度升高而变性。抑制剂有硫酸十二酯烷，醇类，脂肪酸，咪唑和吲哚衍生物。

理化参数 pI11.0～11.35。最适pH9.2，以微球菌作底物时6.5。$A^{1\%}_{281.5}$26.4。

制备方法[1] 工业上生产的溶菌酶主要是糖苷酶型，从鸡卵清中提取。常用的原料为蛋壳上残留的蛋清。在pH6.5用弱酸性阳离子交换树脂732吸附后，再用硫酸铵洗脱，经过透析再冷冻干燥而成，收率为蛋清的0.1%。

工艺流程：



贮存　＋4℃干燥保存。3～5年内稳定。

参 考 文 献

〔1〕 缪辉南：生化药物杂志，35，28(1985)。

苹果酸脱氢酶（猪心）　　Ⅱ-2(1)-0045

Malate dehydrogenase

别名　MDH；L-Malate：NAD^+ oxidoreductase

EC　1.1.1.37

分子量　70000

酶反应

$$\text{L-苹果酸盐} + NAD^+ \rightleftharpoons \text{草酰乙酸盐} + NADH + H^+$$

单位定义　在25℃，pH7.4，1分钟氧化1μmol的NADH的酶量为1单位。

理化性质　此酶由两个相同的多肽（各有分子量35 000）所组成。一个分子有两个辅酶结合部位。激活剂有磷酸盐，砷酸盐和Zn^{2+}。抑制剂有几种碘化剂-甲状腺素、氰化碘、分子碘、噻吩甲酰三氟丙酮（TTFA）和氯丝菌素（chlorothricin）。

理化参数　$A_{280}^{1\%}2.8$。

制备方法[1]　此法用10kg新鲜猪心，8～10天可完成，得到300～400mg均一的酶。

1．粗抽提液

（1）新鲜猪心（20～25磅）切成小块，除去脂肪和结缔组织，并在冷蒸馏水中洗涤。上述洗涤过的心肌（5kg）用机械绞肉机绞2次，肉糜悬浮于8L冰冷蒸馏水中。

（2）悬浮的肉糜在一个3.8L的组织捣碎器内每2升一批捣碎，（低速，2分钟，4℃）。冷蒸馏水（5L）加入至匀浆中，混合物置4℃过夜，使酶溶解。粗抽提液含4.1×10^6U的酶，比活2.2×10^3U/mg。

2．酸沉淀

匀浆分批在4℃离心（14000×g）。上清液用1mol/L乙酸调pH至5.0，溶液放置4℃，2～

3小时，间歇搅拌（含有沉淀掉蛋白的溶液）。抽气过滤，清滤液用1mol/L氢氧化钠调pH至7.0。滤液13.5L含3.9×10^{6}酶单位的苹果酸脱氢酶（上清液和线粒体酶），比活2.9×10^{3}U/mg。

3．羧甲基纤维素负吸附

（1）第一次负吸附——羧甲基纤维素（CM—C）

① 吸附剂的制备。羧甲基纤维素（300g，干重）和4L0.2mol/L磷酸钠缓冲液（pH7.0）混匀。悬浮液不时地搅拌30分钟，然后让它沉下。倾出细的部分，重复上述步骤1次。羧甲基纤维素和10L蒸馏水混合，真空抽滤。滤饼重新悬浮于4L 0.01mol/L磷酸钠缓冲液（pH7.0）中，不时搅拌30分钟，真空过滤。这步反复3遍。

② 蛋白吸附。潮湿的CM—C滤饼放入第2.步的酶抽提液中，温和地在室温搅拌30分钟，抽滤。滤液保存于4℃。

（2）第二次负吸附——羧甲基纤维素滤饼悬浮于4L0.5mol/L磷酸钠缓冲液中，搅拌30分钟，真空过滤。滤饼用10L蒸馏水洗涤，接着用0.01mol/L磷酸钠缓冲液（pH7.0）洗涤3次，如第3.（1）①。重复3.（1）②。3.（1）②和3.（2）除去大部分的线粒体苹果酸脱氢酶和其他的蛋白杂质。得13L含1.6×10^{6}单位的酶，比活3.6×10^{3}U/mg（线粒体苹果酸脱氢酶吸附在CM-C上而上清液酶则不吸）。

4．DEAE纤维素负吸附

（1）负吸附——DEAE-纤维素（DEAE-C）

① 吸附剂的准备。DEAE-纤维素（700g，干重）用磷酸钠缓冲液如3（1）①方法平衡。

② 蛋白吸附。第3(2)步酶滤液和400g干重当量的DEAE-纤维素（约1600g潮、过滤后重量）混匀，在室温温和地搅拌30分钟。抽气过滤。这一步吸附除去蛋白杂质，把上清液苹果酸脱氢酶留在滤液内。溶液含1.52×10^{6}单位的酶，比活1.15×10^{4}U/mg。

（2）第4(1)步滤液用冷蒸馏水稀释至50L以降低溶液的离子强度，并在室温与300g（干重量）从第4(1)步留下的DEAE-纤维素（约1200g潮的，过滤后重量）搅拌1小时。真空过滤。上清液酶仍吸附在交换剂上。DEAE-纤维素悬浮于5L0.01mol/L磷酸钠缓冲液（pH7.0）中，并真空过滤以除去夹带但未被吸附的蛋白，特别是线粒体苹果酸脱氢酶不被吸附）。此步骤重复2次。

5．DEAE纤维素层析

（1）洗涤过的吸附有上清液苹果酸脱氢酶的DEAE-纤维素和约5L 0.01mol/L磷酸钠缓冲液（pH7.0）搅匀，装进一大柱（内径9.0cm）中。一个6L线性梯度（0.01和0.05mol/L磷酸钠缓冲液，pH7.0）通过装好的柱，流速约400mL/h。酶在约0.03mol/L磷酸钠时洗脱出来。产量400～500mg酶，比活约3×10^{4}U/mg。

含酶比活在3×10^{4}U/mg以上部分合并，加硫酸铵至饱和以沉淀酶。用氢氧化铵调pH至7.0。故意排除低比活的酶，对后几步纯化过程是重要的。

（2）第5(1)步的硫酸铵悬浮液在4℃离心（$14000\times g$）。沉淀溶于85mL 0.01mol/L磷酸钠缓冲液（pH7.0）中，用稀氢氧化钠调pH至7.0。用0.01mol/L磷酸钠缓冲液(pH7.0)使容积为100ml。蛋白浓度为约12ml/mL。

6．硫酸铵分级

（1）35%硫酸铵。慢慢加入24.5g硫酸铵至第9步的溶液中，连续在4℃搅拌4小时。沉

淀含6.5mg酶，比活为3.4×10^3U/mg。

（2）55%硫酸铵。加14g硫酸铵至35%的上清液中，在4℃搅拌30分钟，并照6(1),离心。沉淀含79mg酶，比活1.8×10^4U/mg。

（3）75%硫酸铵。加14g硫酸铵至55%的上清液中，在4℃搅拌30分钟,并离心如6(1)。沉淀含360mg酶，比活8.4×10^4U/mg。

以上步骤是基于假设在4℃溶液用硫酸铵饱和浓度为700g/L。酶浓度以比活计算，假设1mg上清液苹果酸脱氢酶等于10^5酶单位。

（4）75%硫酸铵沉淀溶解于10mL 0.01mol/L磷酸钠缓冲液（pH7.0）中，对二个2L同样缓冲液在4℃透析24小时。

7．羟基磷灰石层析

（1）吸附剂的制备。羟基磷灰石（50g）悬浮于700mL 0.025mol/L磷酸钠缓冲液（pH7.0)中，搅拌，使沉下。倾去细颗粒，重复4次。羟基磷灰石悬浮于500mL 0.01mol/L磷酸钠缓冲液(pH7.2)中,使沉下并倾泌溶液。重复3次。羟基磷灰石最后悬浮于0.01mol/L磷酸钠缓冲液（pH7.2）中，总容积为400mL，并倒进一个具有水夹套的柱（内径2.7cm，高65cm）内，接至一个4℃的分部收集器。使交换剂沉下过夜。最后装好的床体积为约150mL。对柱加压小于$100g/cm^2$，这样可避免流速的减小。装完后300mL起始缓冲液（0.01mol/L磷酸钠缓冲液，pH7.2）流过柱。

（2）蛋白质的洗脱。从第6.(4)步得到的透析酶液吸附在柱上，柱用200mL缓冲液洗涤。一个500mL线性梯度（在0.01和0.04mol/L之间的磷酸钠缓冲液，pH7.2），接着用一个300mL线性梯度（在0.04和0.2mol/L之间的磷酸钠缓冲液，pH7.2）通过柱，流速为40mL/h。酶在约0.1～0.12mol/L磷酸钠浓度时洗脱下来。较高的缓冲液浓度梯度(0.04～0.2mol/L)，用以减少在低缓冲液浓度下，看得出的酶的"拖尾"。总产量为340mg上清液苹果酸脱氢酶，比活10^5U/mg。

如果需要，酶在4℃用硫酸铵在0.01mol/L磷酸钠缓冲液（pH7.0）中结晶。在此条件下，结晶在72～75%硫酸铵饱和度之间出现。但是，结晶并不是必需的，因为从第7步所得的酶用不同的标准来考察都是均一的。

MDH纯化步骤的总结

步骤	10^{-6}×总酶 U	总蛋白×10^{-3} mg	比活 U/mg	产率 %
粗抽提液	4.1	186	2200	100
酸沉淀	3.9	134	2910	95.1
CM-C负吸附	1.6	44	3600	39
DEAE-C负吸附	1.52	13.2	11500	37
DEAE-C层析	0.4	1.2	33000	9.7
硫酸铵分级	0.36	0.43	84000	8.8
羟基磷灰石层析	0.34	0.34	100000	8.3

贮存 干燥，+4℃；6个月内活力可下降约10%。

参考文献

〔1〕 Gerding R. and Wolfe R. G.: *J. Biol. Chem.*, 244, 1164, (1969).

肌激酶（兔肌） Ⅱ-2(1)-0046

Myokinase

别名 腺苷酸激酶 Adenylate kinase; ATP: AMP phosphotransferase

EC 2.7.4.3

分子量 21278

酶反应

$$MgATP + AMP \rightleftharpoons MgADP + ADP$$

单位定义 在30℃，pH7.6，1分钟转化1.0μmol的AMP为ADP的酶量为1国际单位。

理化性质 此酶需要二价金属才有活力。ATP对金属的最适比例为0.6～1.0。对兔肌激酶而言，离子反应活性为$Mg^{2+} \geq Ca^{2+} > Mn^{2+} > Ba^{2+}$。金属离子与核苷二磷酸（NDP）或核苷三磷酸（NTP）形成络合物。

理化参数 兔肌酶的pI6.1。以氯化锰活化时其最适pH约为9。肌肉肌激酶都不含色氨酸。$A_{280nm}^{1.1\%}$约0.6。$S_{20,w}^{\circ} \times 10^{23}$为2.3，$D_{20,w}^{\circ} \times 10^{7}$为10.0，$\bar{v}$0.73，$f/f_0$1.15。

制备方法[1] 操作在2～4℃进行。硫酸铵饱和度在0℃计算。

1. 匀浆　得Ⅰ部分。

2. pH2.0变性　得Ⅱ部分清浅黄色滤液。

1和2按J. Biol. Chem. 226, 541(1957)制备。从4.0kg研磨肌肉中制得。

3. 柠檬酸铵抽提　搅拌加入1.0mol/L乙酸锌至Ⅱ部分中使最终浓度达0.0185mol/L，同时加入2mol/L氢氧化钠以维持pH在7.0。悬浮液搅拌20分钟，然后离心（1300×g，30分钟）。沉淀收集在烧杯中，小心地悬浮于0.04×Ⅱ部分容积的0.25mol/L柠檬酸铵(pH8.0)中。搅拌2小时后，悬浮液用5.0mol/L氢氧化铵调节pH至7.6，机械搅拌过夜。悬浮液离心（1300×g，20分钟），保留上清液，沉淀重新悬浮于0.25mol/L柠檬酸铵（pH8.0）中，其量为Ⅱ部分的0.02倍。搅拌20分钟后，悬浮液同上离心，合并两次上清液为Ⅲ部分。

4. 硫酸铵分级　加固体硫酸铵（制备酶用的质量）至Ⅲ部分，使达0.54饱和度。如果需要，用5mol/L氢氧化铵调节pH至7.6。悬浮液混合20分钟，离心（10000×g，20分钟）。量上清液容积，硫酸铵饱和度从0.54提高至0.88。再次调pH至7.6；悬浮液混合20分钟后离心（10000×g，20分钟）。沉淀溶于0.01mol/L咪唑缓冲液（pH7.0）中，其量为Ⅲ部分的0.1倍，并对同样缓冲液18L流动透析12～15小时（透析除去所有硫酸铵；否则酶将不会在下一步吸附在磷酸纤维素上）。透析后制剂为琥珀色并有稍许浑浊。离心（10000×g，20分钟）得Ⅳ部分，体积约150mL（视起始用肌肉量而定），蛋白浓度约30～35mg/mL。

5. 磷酸纤维素层析　把酶注入磷酸纤维素柱（2.5×35cm）中，流速125mL/h用蠕动泵维持。柱中约用15g干重磷酸纤维素，交换容量0.7mmol/g。总蛋白量上柱通常为4.5～5.0g，大约得400～500mg肌激酶的峰，此量对此柱为最高限量。第1峰和第2峰用0.1mol/L咪唑（pH7.0）洗脱；第3峰和第4峰用0.1mol/L咪唑～0.1mol/L咪唑—0.3mol/L氯化钠，pH7.0，各800mL线性梯度洗脱。第3峰含基本上所有肌激酶活力，含总蛋白的8%。合并比活大于1200U/mg部分，为Ⅴ部分。

6. 硫酸铵沉淀　加肌体硫酸铵至Ⅴ部分使达0.88饱和度。用0.5mol/L硫酸调节pH至6.1，悬浮液混合1小时，离心（14000×g，20分钟）。沉淀溶于足够量的冷水中使蛋白浓度为约15mg/mL，溶液对2L 2×10^{-4}mol/L EDTA(0.55硫酸铵饱和度）透析6～8小时。离心

(14000×g）得Ⅵ部分。

7．结晶　酶按J. Biol. Chem., 237, 1535(1962)。方法结晶。酶溶液蛋白浓度4～5%在0.01mol/L琥珀酸盐（pH6.4）硫酸铵饱和度为0.6的溶液中。第一次结晶的比活与前人报导之最高活力相同，重结晶并不能进一步纯化。

肌激酶的制备（制自4.72kg研磨肌肉）

部分	体积，mL	总蛋白量，mg	比活力，U/mg
Ⅰ部分	14,900	170000	17
Ⅱ部分	19,000	29400	91
Ⅲ部分	1,650	13600	105
Ⅳ部分	135	4540	262
Ⅴ部分	300	382	2150①
结晶	9	360	2200

① 从磷酸纤维素柱合并峰的比活。

贮存　作为酶结晶悬浮于0.64硫酸铵饱和度的0.01mol/L琥珀酸盐（pH6.4）溶液中，保存于2℃可以长期稳定。如需要除去硫酸铵，取适量的酶，溶于足够量的0.01mol/L琥珀酸盐缓冲液（pH6.4）中，使蛋白浓度为20～40mg/mL。溶液对2L琥珀酸缓冲液流动透析12小时，浑浊用离心（14000×g）除去。酶的比活在琥珀酸中是稳定的，但溶液会产生稍许的浑浊，可以用离心除去。有些制剂在琥珀酸缓冲液中－14℃保存6个月，但反复地结冻和解冻，比活下降10～15%。保存于＋4℃，制剂对酸和热稳定。

参考文献

〔1〕 Kress L. F., Bono V. H. Jr., and Noda L.: *J. Biol-Chem.* 241, 2293(1966).

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸激酶（鸽肝）　Ⅱ-2(1)-0047

Nicotinamide adenine dinucleofide kinase

别名　NAD kinase, ATP: NAD^+2′-phosphotransferase

EC　2.7.1.23

酶反应　β-NAD＋ATP⟶β-NADP＋ADP

单位定义　在pH7.5，37℃，每分钟在ATP存在下磷酸化1.0μmol的β-NAD成为β-NADP的酶量为1单位。

理化性质　抑制剂。鸽肝酶有还原NAD，ADP-核糖，ADP和2′-和3′-或S′-AMP。制自*A. vinelandii*的酶有ADP，2′-，3′-和5′-AMP，NMN，烟酰胺和甘油。

制备方法[1]

1．碳酸氢钾抽提　6g鸽肝丙酮粉用70mL冰冷0.02mol/L的碳酸氢钾抽提。用匀浆器保持在冰浴中抽提更有利。以下各步操作在0～5℃中进行。匀浆在18000转/分钟离心15分钟以除去不溶残渣。上清液（51mL）为深红色粗抽提液，NAD激酶比活为0.0178。

2．鱼精蛋白沉淀和乙酸盐抽提　0.2%鱼精蛋白硫酸盐在0.04mol/L Tris缓冲液（pH7.5）中的溶液在搅拌下缓慢地加入至粗抽提液中，立即有沉淀形成。当不再有沉淀出现时，不必再加鱼精蛋白溶液。一般，1份粗抽提液约需2份鱼精蛋白溶液。鱼精蛋白沉淀在4000转/分离心10分钟，用0.2mol/L乙酸缓冲液（pH5.0）抽提2次，每次20mL，以后残渣弃去。合并乙酸抽提液得37mL。比活0.469。（鱼精蛋白沉淀时的上清液含去磷酸化辅酶A

激酶)。

3. 氢氧化铝C_γ吸附　等体积的水加入至乙酸抽提液中。逐渐加入18.5mL氢氧化铝凝胶C_γ（干重16.3mg/mL）至稀释的抽提液（74mL）中。放置冷处经常搅拌10分钟后，在4000转/分离心10分钟。弃去上清液。氢氧化铝残渣用0.2mol/L磷酸缓冲液，（pH7.5）洗脱3次，每次18.5mL，然后弃去残渣。总洗脱液得55mL。比活0.768。

4. 硫酸铵沉淀　等体积的室温饱和硫酸铵（pH7.1）加入至磷酸洗脱液中。离心收集沉淀，溶于4.5mL 0.02mol/L磷酸缓冲液（pH7.5）中。酶的体积为6.5mL。比活0.828。

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸激酶的纯化

部分	体积，mL	蛋白质	比活	产率
碳酸氢钾抽提	51	30.9	0.178	28.2
乙酸盐抽提	37	5.2	0.469	90
氢氧化铝C_γ洗脱	55	1.8	0.768	75.6
硫酸铵分级	6.5	10.7	0.828	57.7

从乙酸抽提液计总产率为64%，提纯46.5倍。纯化酶对0.02mol/L碳酸氢钠在7℃透析8小时并不丧失活力。它对结冻和解冻是稳定的。在－15℃保存4个月引起很少活力的损失。制剂含很少或不含DPCoA激酶活力。

测定NAD激酶活力所需组分为Mg^{2+}，ATP，NAD和酶。完整的实验含1.35μmol/L NAD，4μmol/L ATP，5μmol/L氯化镁，酶1.07mg和Tris缓冲液（pH7.5）100μmol/L，总体积为0.55mL。其他的实验含所有的成分，但缺其一如下所示。所有实验在37℃保温1小时。

条件	NADP形成，μ mol/L
完整的系统	0.753
不含NAD	0
不含ATP	0
不含Mg^{2+}	0.027
不含酶	0

参　考　文　献

〔1〕 Wang T. P. and Kaplan N. O.: *J. Biol. Chem.*, 206,311(1954).

核酸酶P_1（桔青霉）　　Ⅱ-2(1)-0048

Nuclease P_1 (*Penicillium citrinum*)

EC　3.1.30.1

分子量　约42000～50000；44000（沉降平衡法，SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法）。

酶反应　核酸酶P_1裂解RNA和DNA中的3′→5′磷酸二酯键和单核苷酸和寡核苷酸中的3′-磷酸单酯键，没有碱基专一性。

单位定义　用RNA测3′→5′-磷酸二酯酶：在37℃，pH5.3，1分钟释放1.0μmol的酸溶性核苷酸的酶量为1单位。

用3′-MP测3′-核苷酸酶：在37℃，pH5.3，1分钟水解1.0μmol正磷酸的酶量为1单位。

理化性质　此酶是一个糖蛋白、由蛋白质和糖两部分组成。蛋白质占约81%，糖约17.4%

（甘露糖：半乳糖：氨基葡糖6∶2∶1分子比）。此酶是没有亚基组成的。蛋白质的氨基酸组成分析，其中有25%的氨基酸残基具有可解离的基团，有21%的氨基酸残基具有亲水性基团，有54%的氨基酸残基具有疏水性基团。含有如此多的疏水氨基酸，特别是酪氨酸和色氨酸残基，是这个酶的重要特性，大量的疏水氨基酸使酶形成了紧密的结构，可能是此酶高度稳定的原因之一。此酶对蛋白变性剂尿素和盐酸胍表现得非常稳定，对热也相当稳定。此酶是一个含锌的金属酶，每个酶分子含有三个锌原子。锌对酶活及酶稳定性极为重要。

理化参数 pI 4.5

制备方法[1]

1．粗酶液的制备 若采用液体培养法，流程：斜面培养（试管）→种子培养（茄子瓶）→发酵罐→酶液。发酵液经布袋压滤，除去菌体，所得之金黄色透明滤液即为粗酶液，在10℃下保存，数月之内活力变化不大。

若采用固体培养法，流程：斜面培养（试管）→种子培养（克氏瓶）→曲盘培养→浸取酶液。培养好的青霉曲用麸皮量10倍的去离子水在40～45℃保温，浸泡1小时，间歇搅拌若干次，用厚的绒布袋压滤，滤液即为粗酶液。在10℃下保存。

2．酶粉的制备 粗酶液用3倍冷酒精沉淀、干燥做成酶粉，酶粉十分稳定，密封后，在室温下可保藏1年以上。具有体积小、易保藏的优点。1L发酵液通常可得1～2g酶粉，活力回收在70%以上。

3．纯酶制剂的制备 所有操作均在4℃进行。

抽提：20kg固曲用60L自来水浸泡2小时，间歇搅拌，布袋压滤，离心除去孢子和菌体，得到50L粗酶液。

第一次硫酸铵沉淀：边搅拌边慢慢地向粗酶液中加入34kg硫酸铵，最后饱和度达0.9，放置过夜，离心（6000转/分钟，20分钟），沉淀溶于1.5L去离子水中，对流动水透析过夜，透析中生成的沉淀用离心（10000转/分钟，5分钟）除去。

热处理：在透析好的酶液（2.3L）中，加1mol/L氯化锌溶液使锌离子最终浓度为7×10^{-3}mol/L，用0.1mol/L氢氧化钠调pH至5.3，在70℃水浴中搅拌加热至60℃，再移至63℃水浴，在63℃不断搅拌维持15分钟，用冰浴冷至5℃，热处理中产生的沉淀用离心（10000转/分钟）除去。经处理后，5′-磷酸二酯酶的活力可提高1.5倍，同时也钝化了其他不需要的酶，例如水解RNA生成3′-核苷酸的核酸酶、非专一的磷酸酯酶和5′-核苷酶。

第二次硫酸铵分级沉淀：热处理的酶液（2.5L），边搅拌边加入750g硫酸铵，饱和度为0.4，放置过夜。离心（6000转/分钟，10分钟）除去沉淀。再加820g硫酸铵使上清液达0.8饱和度，放置过夜。离心（10000转/分钟，10分钟）收集沉淀，再溶于265mL去离子水中，对流动去离子水透析过夜。

丙酮沉淀：270mL冷丙酮（－10℃）加入420mL透析液中，丙酮浓度为40%，搅拌30分钟，放置2小时后，在－5℃离心（10000转/分钟，10分钟），将沉淀溶于188mL 0.05mol/L乙酸缓冲液（pH6.0）中，对同样缓冲液透析。

第一次葡聚糖凝胶G-100过滤：凝胶柱用上述缓冲液平衡后，样品上柱，用同样缓冲液以20mL/h流速过滤，每15mL收集一管，收集比活较高的溶液2L，加1368g硫酸铵饱和度达0.9，放置2小时，离心（10000转/分钟，10分钟），沉淀溶于25mL 0.05mol/L乙酸缓冲液（pH6.0）中，并对同样缓冲液透析。

第一次DEAE-纤维素柱层析：有一个很陡的酶活力峰，将这部分收集液（300mL）在

搅拌下慢慢加入205g硫酸铵，饱和度为0.9，放置2小时，离心（10000转/分，10分钟），沉淀溶于20mL 0.05mol/L乙酸缓冲液（pH6.0），并对5L缓冲液透析。

第二次DEAE-纤维素柱层析：所得的26mL浓缩酶液（A_{280}为16）用同样方法在DEAE-纤维素柱上再层析一次，酶集中在一个峰内流出，收集后对5L缓冲液透析过夜，透析液浓缩至12mL。

第二次葡聚糖凝胶G-100过滤：酶活力出现在同一峰内。收集后对流动蒸馏水透析过夜。透析液放在盛有五氧化二磷的干燥器内在4℃冷冻干燥，得到纯的酶制剂。

超离心检查只有一个均一的峰，电泳也是均一的，等电聚焦结果也是一个蛋白峰。pI为4.5。

贮存 干燥，+4℃保存。

参考文献

〔1〕 张树政："酶制剂工业"（下册），753，1984年。

核酸酶S_1（米曲霉） Ⅱ-2(1)-0049

Nuclease S_1 (*Aspergillus oryzae*)

EC 3.1.30.1

分子量 32000～36000

酶反应 此酶专一地水解单链DNA和RNA末端和内部的磷酸二酯键。

单位定义 在37℃，pH4.6，1分钟使产生酸溶性的1μg变性DNA的酶量为1单位。

理化性质 米曲霉核酸酶S_1是一金属蛋白质。它降解DNA和RNA，产生5′-单核苷酸。

激活剂有Zn^{2+}和Co^{2+}最有效；Cd^{2+}和Mn^{2+}也有用。

抑制剂 有EDTA，柠檬酸盐，高浓度的十二烷基硫酸钠。

稳定性 此酶在乙酸缓冲液中耐短时间加热至75℃，在中性60～65℃即失活。在pH3.1缓冲液，45℃ 90分钟90%活力被破坏；在pH3.4，35%活力被破坏。

理化参数 最适pH为4.2，范围在4.0～4.6。

制备方法[1] 米曲霉单链专一核酸酶使用的起始原料是Sigma"粗淀粉酶（米曲霉）"4g，保存于-20℃，6个月内不损失核酸酶活力。

1．粗酶液 4g粗淀粉酶溶于200mL的柱缓冲液+0.05mol/L氯化钠中。柱缓冲液A：0.02mol/L乙酸钠pH4.6，0.1mmol/L硫酸锌，5%甘油。在0℃搅拌1小时。低速离心（10000×g，10分钟）除去不溶物质。上清液深棕色置500mL瓶内。

2．热处理 用乙酸调至pH5.0。在75℃水浴内加热至70℃（剧烈振荡）。立即在冰水中冷却后，沉淀的蛋白离心除去。以下步骤要在0～4℃中进行。

3．硫酸铵沉淀 上清液加热后调节至200mL，加入100g硫酸铵。搅拌1小时后，离心，弃去沉淀的蛋白。再加40g硫酸铵至上清液，继续搅拌3小时。从未溶的结晶倾泌饱和硫酸铵溶液后，液体离心收集细而分散的蛋白沉淀。沉淀重溶于50mL缓冲液B（0.02mol/L Tris, pH7.5，0.05mol/L氯化钠，0.1mmol/L硫酸锌，5%甘油）。为了降低残留硫酸铵浓度，此溶液再用三倍体积的缓冲液B（不含氯化钠）稀释至导电度与缓冲液B同。

4．DEAE纤维素层析 酶溶液吸附在1.8×17cm柱上，流速15mL/h，柱预先用缓冲液B平衡。柱用200mL缓冲液洗涤。流出部分没有核酸酶活力。洗脱时采用400mL线性梯度氯

化钠→0.35mol/L含缓冲液B的溶液。流速15mL/h。所有DNA酶和RNA酶以单一峰在0.18～0.22mol/L氯化钠之间出现。合并高峰（第23～26）部分，对2L缓冲液C(0.05mol/L乙酸钠（pH3.8）0.01mol/L 氯化钠，0.1m mol/L 硫酸锌，5%甘油）透析过夜。

5. 磺基Sephadex层析 合并的透析DEAE-纤维素部分吸附在0.8×9cm的磺基Sephadex C-50柱（预先用缓冲液C平衡）上。柱用25mL缓冲液C洗涤后，用一个38mL的氯化钠增至0.16mol/L的缓冲液C梯度洗脱，流速4mL/h。RNA 酶和DNA酶的吸收峰在0.04～0.055 M氯化钠之间出现。由于缓冲液与核酸酶不可逆失活的pH接近，由于磺基Sephadex树脂在离子强度增加时释放出氢离子，所以测量导电度后在每部分中立即加$\frac{1}{20}$容积1mol/L乙酸钠 pH5.0。

6. Sephadex G-100凝胶过滤 合并上述活力峰（第47～51部分），用$\frac{1}{2}$体积缓冲液A稀释，然后通过0.5mL DEAE-纤维素柱，柱预先用缓冲液A＋0.02mol/L氯化钠平衡。吸附的蛋白质用缓冲液A＋0.5mol/L氯化钠以浓缩形式洗脱下来。加入蓝色葡聚糖和〔^{35}S〕甲硫氨酸以标记排阻和包含容积后，此浓缩部分（0.6mL)直接上Sephadex G-100柱（1.8×35cm)，柱预先用缓冲液A＋0.3mol/L氯化钠平衡。流速4mL/h，分部收集，测定DNA酶，RNA酶，光吸收率和放射性。

所有酶活力与主要的蛋白峰（占90%总蛋白量）重合，此峰在蓝色葡聚糖和〔^{35}S〕甲硫氨酸之间的2/5出现。合并同前，酶在－20℃保存于50%甘油中。

酶的回收和纯度

步 骤	容积	蛋白	核酸酶	比活	提纯倍数	回收率	DNA酶/RNA酶
	mL	mg	kU	U/mg			
粗酶液	200	1200	250	0.21	(1)	(100)	0.4
加热至70℃	190	670	250	0.37	1.8	100	7
硫酸铵	50	35	254	7.3	35	101	6
DEAE纤维素	37	6.7	218	33	160	87	7
磺基Sephadex	4.3	0.39	132	340	1600	53	7
Sephadex G-100(浓)	2.1	0.13	67	520	3000	27	5

用本法制得酶的特性为

（1）最适pH4.5；活力在pH4.9为50%；在pH6.4时为pH4.3最高活力的2.5%；在pH7.2时为0.1%。

（2）EDTA降低活力70%。活力降低可通过加入过量的Zn^{2+}得到部分恢复。

（3）0.12mol/L磷酸缓冲液能使失活。

（4）保存于－20℃，50%甘油中。

（5）能耐低浓度的十二烷基硫酸钠（至0.04%）。

参 考 文 献

〔1〕 Vogt V. M.: *Eur. J. Biochem.* 33, 192(1973).

木瓜蛋白酶　　Ⅱ-2(1)-0050

Papain (Carica papaya)

别名　Papainase

EC　3.4.22.2

分子量　约20700（沉降-扩散法计算）
　　约23000（按氨基酸组成计算）

酶反应　木瓜蛋白酶是一种巯基蛋白酶。它分解比胰脏蛋白水解酶更多、更广泛的蛋白底物。它也具有酯酶活力。

单位定义　在25℃，pH6.2，1分钟水解1μmol分子苯甲酰-L-精氨酸乙酯的酶量为1单位。

理化性质　木瓜蛋白酶是单条肽链，有211氨基酸残基折迭成两部分形成裂缝。酶分子只有1个巯基，对酶活力是必需的。激活剂有半胱氨酸，硫化物，亚硫酸盐和EDTA。抑制剂有巯基试剂包括重金属和羧基试剂和过氧化氢。

理化参数　pI 9.6（也有报导8.75）；最适 pH 6.0～7.0；$A^{1\%}_{278,1cm}$25.0；$[\alpha]^{25}_{D}$ −66.7°(pH5.7)。

制备方法[1]

1．粗抽提液的制备　干木瓜乳液（180g）和硅藻土（100g），洗过的沙子（150g）混匀，在室温与200～300mL0.04mol/L半胱氨酸（6.3g半胱氨酸盐酸盐溶于1000mL 0.054 mol/L氢氧化钠中，需要过量的碱使水抽提液的pH调至5.7）在研砵中充分磨匀。也可以用捣碎机抽提。悬浮液放置后倾出上清液。重复磨碎和抽提可再用300mL半胱氨酸溶液；研砵用半胱氨酸溶液洗涤以调节抽提液体积至1L。所得悬浮液用18cm布氏漏斗在冷室过滤（0.5 cm高岭土层，轻轻抽滤）。过滤所需时间与所用的干乳胶的粗细度有关，这步骤可能很慢。滤液（第1部分）是绿黄色不透明的，pH应接近5.7。以后几步应在冷室中进行，除非特别注明。

2．除去pH9不溶物　第1部分在搅拌下慢慢加入约110mL mol/L氢氧化钠调节pH至9。所得灰色沉淀用过滤或离心（2600转/分，1小时）除去。上清液（第2部分）应澄清。含变性蛋白的沉淀弃去。

3．硫酸铵分级沉淀　第2部分加硫酸铵至饱和度0.40，1～2小时后，悬浮液离心(2500转/分钟)。上清液弃去（或留作木瓜凝乳蛋白酶制备用），沉淀（第3部分）用400～500mL 0.40饱和硫酸铵洗1次。

4．氯化钠分级沉淀　第3部分溶于600mL 0.02mol/L半胱氨酸（pH7～7.5），慢慢加入60g固体氯化钠以沉淀木瓜蛋白酶。1小时后离心（2500转/分钟，1小时），收集沉淀(第4部分），上清液弃去。

5．结晶　第4部分在室温悬浮于400mL 0.002mol/L半胱氨酸pH6.5。立即把悬浮液重新调节至6.5。悬浮液置室温30分钟，此时产生结晶的闪耀，置4℃过夜。在冷处离心（25000转/分钟，4～5小时）收集结晶（第5部分），上清液弃去。

6．重结晶　第5部分在室温下溶于最少量蒸馏水中（蛋白浓度约1%），在搅拌下非常慢地加入饱和氢化钠溶液（10mL/300mL蛋白溶液）。当约75%的溶液加入后，木瓜蛋白酶将开始在室温结晶。悬浮液置4℃过夜，同前收集结晶。重复再一次结晶可稍增加其比活。

木瓜蛋白酶也可重结晶如下：溶于70%甲醇，以硫酸锂或氯化锂盐析。

木瓜蛋白酶的纯化

纯化步骤	蛋白，mg	比活	总活力，U
粗抽提液	45	0.19	1300
除去不溶物后	43	0.23	1500
硫酸铵分级沉淀	13	0.30	580
氯化钠沉淀	7		
结晶	2.1	0.84	270

结晶木瓜蛋白酶的产量和比活视各批原料不同而有差异。

贮存 4℃稳定；6个月内活力下降约20%。

参 考 文 献

〔1〕 Kimmel J. R. and Smith E. L.: *J. Biol. Chem.*, 207,515(1954).

胃蛋白酶（猪胃粘膜） Ⅱ-2(1)-0051

Pepsin (porcine stomach mucosa)

别名 Pepsin A

EC 3.4.23.1

分子量 35000

酶反应 胃蛋白酶是酸性蛋白水解酶，有一广泛底物专一性，也包括一酯酶的活力。

单位定义 在37℃，以变性血红蛋白为底物，1分钟产生三氯乙酸溶解物，在A_{280}增加0.001的酶量为1单位。

理化性质 胃蛋白酶在pH6以上是不稳定的。在pH低至1也是相当稳定的。抑制剂为类似底物的环氧化物。

稳定性 4℃保存。

理化参数 $[\alpha]_{366}-232°$。$A^{1\%}_{280}$14.7；$\varepsilon^{278}_{Mo.}$ 50,990（分子量=35000）。pI为1。等离子点pH为2.2～3.0。最适pH约1.0、如果底物为“天然”酪蛋白或血红蛋白。

制备方法[1]

1．粘膜抽提液 猪胃底部区域（可从粘膜的深棕色或红色识别）屠宰后，尽快收集在冰上拿回实验室。每次做10～12个胃比较方便。以下步骤在冷室进行。

用载玻片尽量刮取粘膜，在绞碎器中绞碎。绞碎物用4L/kg 0.02mol/L磷酸缓冲液，pH6.9(0.01mol/L磷酸二氢钠，0.01mol/L磷酸氢二钠)，每升含5000U青霉素和50mg链霉素搅拌2小时或过夜。硅藻土（100g/L缓冲液）和高岭土（50g/L缓冲液）搅拌加入，用过滤或离心（1000×g，10分钟）分离得液体。抽提液（可能仍浑浊）含约60[PU]^{Hb}/L。

2．柱层析分离 上述抽提液与0.15倍体积DEAE-纤维素（交换容积约1mmol/g，纤维素预先用0.02mol/L磷酸缓冲液，pH6.9平衡，其浓度是使沉下的离子交换剂体积约为悬浮液之半）搅拌0.5～1小时。吸附了蛋白质的DEAE-纤维素离心（1000×g，10分钟）。上清液的活力是吸附酶原之前的5～10%。

DEAE-纤维素用0.02mol/L磷酸缓冲液（pH6.9）洗涤3次，离心（1000×g，10分钟）以除去粘液，否则会使以后层析非常慢。吸附了酶原的DEAE-纤维素重新悬浮，并移至一根装有10×5cm（直径）DEAE-纤维素柱顶部（柱预先用0.02mol/L磷酸缓冲液，pH6.9平衡）。装纤维素总高度约20cm。洗脱用氯化钠浓度递增液进行。把含0.45mol/L氯化钠的

0.02mol/L磷酸缓冲液通至一个含有2L以甲苯饱和过的0.02mol/L磷酸缓冲液（pH6.9）的封闭混合容器内，分部收集每份50mL。流速 50mL/h。第1合并部分是用以制备胃蛋白酶原B和D和胃蛋白酶原；这是主要含胃蛋白酶原部分，第2合并部分是用以制备胃蛋白酶原C部分。

3. 从胃蛋白酶原制备胃蛋白酶 75mg结晶胃蛋白酶原溶于玻璃蒸馏水中，溶液pH5～6。使之达14℃，在搅拌下加入0.75mL一氯乙酸-盐酸混合物（9mL 2mol/L一氯乙酸和1mL 1mol/L盐酸）调至pH2.0（玻璃电极）。酸化必需迅速，在20～25秒内完成。如果胃蛋白酶原含较多盐，需要较多的酸盐酸的浓度应增加；胃蛋白酶原也可预先通过Sephadex G-25在水中的柱以脱盐。溶液准确地在14℃保持20分钟，pH2.0，然后加入0.75mL 4mol/L乙酸钠缓冲液，pH5.0（544g乙酸钠三水合物+100mL乙酸配至1L）使pH升高至4.40。激活的混合物5分钟内注入磺乙基Sephadex C-25柱（30×2.5cm），柱预先用0.4mol/L乙酸钠缓冲液（40.29g乙酸钠三水合物+29mL冰乙酸配至2L），pH4.38±0.03平衡。在4℃操作，流速约60mL/h。流出液分部收集每份4mL，用254nm或280nm测定吸光度，合并有紫外吸收部分。加入2mol/L乙酸钠调pH至5，分成小份，结冻保存于-20℃。此酶备用液可通过Sephadex G-25柱转成水溶液或其他所需缓冲液。

参 考 文 献

〔1〕 Perlmann G. E. and Lorand L.: "Methods in Enzymology", Volume XIX, Academic Press, New York and London, 321, 1970.

过氧化物酶（辣根） Ⅱ-2(1)-0052

Peroxidase (horseradish)

别名 HRP; Donor: hydrogen-peroxide oxidoreductase

EC 1.11.1.7

分子量 约40000

酶反应 HRP通过H_2O_2能催化许多底物的氧化，如：抗坏血酸，亚铁氰化物，细胞色素C等。

1）过氧化物酶+H_2O_2⟶化合物

2）化合物+AH_2（可以氧化的底物）⟶过氧化物酶+$2H_2O$+A（氧化产物）

单位定义 在25℃，pH7.0，1分钟分解1μmol的过氧化氢的酶量为1单位。

理化性质 HRP有7个同工酶，都含有原血质Ⅸ作为辅基。含有约18%中性和氨基糖类。抑制剂有氰化物和硫化物在浓度为10^{-5}mol/L。此酶相当稳定。15分钟加温，能稳定至63℃；在室温数周内稳定。冷冻干燥酶粉末可以在冰箱内保存几年。高纯酶的水溶液（1mg/mL）能在5℃保存1年以上基本上没有活力下降。

制备方法[1]

1. 从辣根（100kg）制粗抽提液 辣根连富含过氧化物酶的皮一同机械绞碎。压榨绞碎物，加30L水至干渣中。放置并不时搅拌数小时后，再压榨，再重复一次。得约100L抽提液。

2. 第一次硫酸铵分级 在剧烈机械搅拌下，逐渐加68kg硫酸铵至100L抽提液中，加完盐后继续搅拌1小时。溶液静置过夜。溶液上部固体层收集，大部分的液体抽气除去并弃

去。剩下的悬浮液用小量的饱和硫酸铵溶液洗入离心杯内，离心。无色溶液抽掉，留下的半液状糊（约6L）用厚透析管对自来水透析，机械搅拌，隔几小时换一次水。1天后，换透析管继续透析直至不含盐（2至3天）。管内物离心得约10L溶液。

再加固体硫酸铵（312g/L），溶液放置过夜。相当松的沉淀a用折叠滤纸过滤。滤液中再加硫酸铵（250g/L），含大部分活力的沉淀；在倒出上清液时，粘在容器的壁上为沉淀b。沉淀a和b各自悬浮于最小量的水中，透析至不含盐，离心，得溶液A和B。

3. 用磷酸钙凝胶纯化　溶液A（约1L）含约15%的总活力。用100g每升磷酸钙凝胶处理。（凝胶制法：在盛有1L高质量自来水或去离子水的10L玻璃缸内，在搅拌下加入250mL 0.6mol/L氯化钙，250mL 0.4mol/L磷酸钠，随后用1mol/L乙酸调pH至7.3。缸内注入水，沉淀用倾泌法洗涤6次，离心后悬浮于水，得400mL厚浆）放置5分钟后，离心。上清液再同样处理，弃去沉淀。加硫酸铵（242g/L），数小时后离心所得沉淀弃之。上清液加硫酸铵（205g/L），沉淀离心收集，悬浮于少量水中，透析至不含盐。所得溶液加至2的B液中，得约4L。

4. 乙醇分级　（在0℃进行，应使用冰冷的溶液和器皿）。在机械搅拌下缓慢加4L 95%乙醇到每1L上述溶液中。上清液小心倾泌并弃去。粘在容器壁上的沉淀溶于3L水中，同上加入2L 95%乙醇。离心得溶液C和沉淀。沉淀与500mL50%乙醇搅匀，离心，上清液加到C液中(5L)。

此溶液在40℃以下真空蒸发至250mL。在0℃加入4倍容积的95%乙醇，离心后沉淀溶于150mL水，得溶液D。

5. 电泳　加1mol/L氢氧化钠至20L 0.3mol/L磷酸氢二钠直至pH为10.3。上述D液对此缓冲液透析再在Tiselius大电泳仪上进行制备电泳。合并相同RZ部分，而RZ<0.20者则弃去或并入下批制备的2。

6. 第二次硫酸铵分级　（从此步开始用A.R.级硫酸铵）电泳最低RZ部分用硫酸铵处理（31g/100mL，饱和度0.50），放置数小时，离心。如果沉淀RZ>0.20，搁在一边，上清液加入硫酸铵（13.5g/100mL，饱和度0.70）。放置数小时后，离心。上清液和所有疏松颗粒倒出，如果加水后RZ>0.20，搁在一边。沉淀（尽量除去上清液）溶于比它较纯部分。如是反复直至最纯部分。最后沉淀溶于小量水中，离心得溶液E。

所有饱和度<0.50和>0.70而RZ>0.20部分合并，加固体硫酸铵至约饱和度0.90的离心。沉淀溶于小量水中并透析。所得溶液重新分级，饱和度为0.50～0.70部分加到E液中，然后透析除尽盐。

7. 溶解度曲线与结晶　离心管（15mL）注入部分的E，加入饱和硫酸铵至每一管中使最后饱和度范围为0.50～0.70。塞好管子，放置过夜。次晨离心，测定上清液的HRP浓度（403nm）和总蛋白（275nm），并对硫酸铵百分浓度作图，由此可求得"10%HRP沉淀"和"90%HRP沉淀"的硫酸铵饱和度的值。所有样品合并，透析除盐，并加至其余溶液中。

结晶所用HRP溶液浓度应调至约0.5%(～0.1mmol/L)，加固体硫酸铵至溶解曲线的较低值。放置过夜后，溶液离心，沉淀F保留备用，上清液滴加饱和硫酸铵溶液直至结晶开始（加入晶种有助结晶）。结晶开始出现后，加硫酸铵溶液继续非常慢（历时数小时）进行直至到达曲线的较高值为止。24小时后离心收集结晶，母液与沉淀F合并。

纯化步骤的总结(100kg辣根)

部分	总容积，L	浓度，mg/mL	总量，g	回收率，%	RZ
生汁	100	0.27	27	—	—
第一次硫酸铵沉淀	10	2.3	23.5	—	—
乙醇分级之前	4	2.6	10.5	100	—
乙醇分级之后	0.15	48	7.2	68	0.32
结晶之前	0.82	5.0	4.1	39	1.4
结晶	—	—	2.0	19	3.0

参 考 文 献

〔1〕 Colowick S. P. and Kaplan N. O.: "Methods in Enzymology", Volume Ⅱ, Academic Press, New York and London, 801,1955.

酸性磷酸酯酶（土豆） Ⅱ-2(1)-0053

Phosphatase acid

别名 Orthophosphoric-monoester phosphohydrolase[acid optimum]

EC 3.1.3.2

分子量 55000±5000

酶反应 在最适pH低于7的情况下，催化

$$正磷酸单酯 + H_2O \longrightarrow 醇 + 正磷酸$$

单位定义 在25℃，pH5.0，1分钟水解1μmol邻羧基或对硝基苯磷酸的酶量为1单位。

理化性质 此酶有广泛酯酶活力，它对焦磷酸有最高活力。它有三个同工酶$E_Ⅰ$，$E_Ⅱ$和$E_Ⅲ$。

抑制剂有氟化物，钼酸盐和正磷酸盐。

理化参数 $K_m = 2.5 \times 10^{-4}$；$E_Ⅰ$最适pH为5.5；$E_Ⅱ$，4.5；$E_Ⅲ$，4.0。

制备方法[1] 酸性磷酸酯酶可以有许多来源，动物如人前列腺、红细胞、牛、大鼠、小鼠的肝和脾，植物如豆科的种子，土豆。

它是一种非专一性的酶。纯化步骤包括丙酮（40～60%）分级沉淀，用硫酸铵（0.40～0.65饱和度）分级沉淀，pH4处理和氧化铝$C_γ$吸附。

土豆的汁在室源下，加入丙酮，使丙酮浓度达40%，所生成的沉淀离心除去。上清液再加丙酮使丙酮浓度达60%，大部分的磷酸酯酶沉淀。离心得沉淀，在水中透析。或再用丙酮和乙醚处理，得干燥粗酶制品。

透析时产生的沉淀除去，褐色不透明液中，加硫酸铵使饱和度达0.4，生成的沉淀过滤除去，滤液再加硫酸铵使饱和度达0.65，磷酸酯酶沉淀。

过滤沉淀，溶于水中。用乙酸使成酸性，产生大量的沉淀。这沉淀是无活性蛋白质的沉淀，在pH4.0放置3小时后过滤除去沉淀。

黄色透明的滤液加氧化铝$C_γ$(pH4.0)，酸性磷酸酯酶完全吸附，离心，氧化铝部分用水洗涤后以10%柠檬酸水溶液（pH7.2）洗脱。所得无色透明酶液透析，然后用硫酸铵盐析得精制酶液。酶液在甲苯存在下置10℃5个月活力不下降。或者，这酶液透析后用丙酮处理成为干燥品。

参 考 文 献

〔1〕 渡边静雄·伊藤英治·竹内五男·近藤敏：日本化学杂志，74,361(1953).

碱性磷酸酯酶（小牛肠粘膜） Ⅱ-2(1)-0054

Phosphatase, alkaline

别名 Orthophosphoric-monoester phosphohydrolase[alkaline optimum]

EC 3.1.3.1

分子量 约100000

酶反应 在最适pH高于7的情况下，催化正磷酸单酯 + $H_2O \longrightarrow$ 醇 + 正磷酸

单位定义 在25℃，pH8.8水解1μmol邻羧基或对硝基苯磷酸的酶量为1单位。

理化性质 pH＞4.5酶活力被抑制。组成为含锌的酶。有3～4个同工酶。

理化参数 最适pH8～9；pI5.7；$A^{1\%}_{278}$7.2～7.8。

制备方法[1] 碱性磷酸酯酶可用*E. coli*法制取，也可从许多哺乳类动物组织（小牛肠、马或猪肾、牛肝）中抽取。下述是制自小牛肠粘膜的方法。

新鲜屠宰小牛，立即收集肠子，把其中的肠系膜，粘膜移入不锈钢烧杯内，立即在冰浴内冷却至0～2℃。40副小牛肠可得约3L粘膜。

因为粘膜匀浆会快速进行自溶，所以要尽快操作以防止受释放出的磷酸酶所造成的水解产物所污染。

（1）粘膜分散于3倍0℃蒸馏水中（捣碎约2分钟），缓慢加入1mol/L氢氧化钠调节pH至7.5。在0℃剧烈机械搅拌30分钟，匀浆用1300mL铝杯，总容量13L离心（1800×g，40分钟）。上清液用棉花在布氏漏斗上过滤以除去脂肪及其他不溶物。滤液立即置不锈钢容器内放入－10℃冰浴中冷至0℃。沉淀弃去。

（2）滤液在0～2℃加乙酸缓冲液（pH4.0），以调节至pH5.0，维持0℃45分钟，离心（1800×g，40分钟，室温），白色沉淀充分分散于8L0.15mol/L氯化钠中。悬浮液用0.5mol/L碳酸钠调至pH7.5，冷却至0℃，温和地在0～2℃搅拌过夜。酶同上述步骤在pH5.0重沉淀，离心收集。上清液应清，并几乎不含可溶性蛋白。沉淀在离心杯内用8L0℃蒸馏水洗涤，立即离心，离子强度下降，最后除去可溶性蛋白。

沉淀再在0℃分散于蒸馏水中并使成5L。pH应在5.5。

改良操作（在中性高速离心）(1)的滤液离心（10000g，30分钟，0～4℃）。上清液离心（40000～60,000g，1～2小时）。沉淀重悬浮于5倍0.15mol/L氯化钠，在捣碎器中捣1分钟，悬浮液用0.2mol/L碳酸氢钠调节至pH7.2，并在0～2℃温和地搅拌过夜。离心（40000～60000g，1小时）。沉淀悬浮于5倍蒸馏水中，在0～2℃搅拌1小时，最后重离心（同前）。沉淀悬浮于3倍蒸馏水中，然后进行下步。

（3）在剧烈机械搅拌下，在15分钟内，缓慢加入约2L正丁醇。混合物加热至38℃，5分钟后立即在1L玻璃杯内离心（1800g，30分钟）。抽气除去清亮、无色的水层，然后用1L布氏漏斗（上铺滤纸和厚层硅藻土）过滤。滤液调至pH8.5，维持0℃过夜，再用硅藻土助滤。

（4）滤液调至pH6.4，冷却至－5℃，直接加乙醚（10%，v/v）和丙酮（60%,v/v）以沉淀酶。在－7℃放置过夜后，抽气滤去上清液，在－5℃离心收集沉淀。沉淀用于丙酮在－15℃洗2次，再用于麻醉乙醚在－15℃洗1次，然后干燥。（先在氮气流中，最后在硫酸和氯化钙上真空干燥）。干粉末可以在0℃氢氧化钠和氯化钙上真空干燥保存。在12个月内稳定。

通常可省略干燥，60%(v/v)丙酮沉淀溶于最小量的0.05mol/L巴比妥-盐酸缓冲液（pH6.4）中，并对0.015mol/L乙酸镁（pH6.4）透析。离心（20000g，1小时，2℃），弃去沉淀。

（5）加入乙醚（10%v/v），酶在-5℃丙酮35～48%(v/v)时沉淀。此部分溶于0.05mol/L巴比妥-盐酸缓冲液（pH6.4）中，对玻璃蒸馏水（0℃）透析除尽有机溶剂。

（6）溶液用0.05mol/L乙酸调pH至4.9，快速加热至48℃2分钟，稍有不透明出现。加乙酸镁（0.5mol/L）使最后浓度为0.015mol/L，溶液调至pH6.4，酶在-5℃用丙酮在40～50%(v/v)沉淀。用40%(v/v)丙酮的沉淀物弃去。40～50%(v/v)丙酮的沉淀溶于缓冲液并同(5)透析除尽有机溶剂。

（7）溶液用0.5mol/L乙酸调至pH5.5，加洗过的活性碳（20mg/次）以除去无活力的蛋白。每次加完后离心（5000g，15分钟，2℃）除去沉淀，反复操作直至约30%酶活被吸附。溶液离心（14000g，30分钟），用0.1mol/L氢氧化钠调节至pH8.0，在布氏漏斗上通过滤纸上的薄层碳酸镁以除去胶状活性炭。

（8）酶溶液用0.1mol/L乙酸调至pH6.4，在2℃对0.15mol/L乙酸镁连续搅拌透析4小时。溶液冷至0℃，加乙酸至10%(v/v)，酶在-5℃用40～48%(v/v)的丙酮沉淀。沉淀溶于玻璃蒸馏水中，对0℃玻璃蒸馏水透析4小时，要经常换水。

透析酶液冷冻干燥。干燥物在氯化钙上真空干燥，0℃保存。此制剂保存于干燥状态12个月活力损失约40%。注意，纯酶稀溶液在-15℃保存会使活力下降，由于不可逆的蛋白变性作用。

小牛肠粘膜碱性磷酸酯酶的纯化

步骤	体积，mL	活力，U/cmg	总活力×10³	总氮量，mg/mL	比活，U/mgN	产率，%	纯化倍数
(1)	12,000	205	2460	2.12	97	100	1
(2)	5,000	216	1080	0.82	263	44	3
(3)	4,450	166	739	0.03	5533	30	57
(4)	55	12560	680	2.06	6029	28	62
(5)	20	26250	525	1.96	13393	21	138
(6)	20	18900	378	0.91	20106	15	208
(7)	32	7340	235	0.11	66727	10	688
(8)	10	14200	142	0.17	83529	6	860

用途 适宜用于免疫测定技术的标记。

贮存 中性或微碱性溶液在室温稳定，对酸使失活是敏感的。部分纯化、不含盐的冻干制剂，+4℃保存；6个月内活力无明显下降，1～2年稳定。

参 考 文 献

〔1〕 Morton R. K.; *J. Biol. Chem.*, 57,595(1954).

磷酸二酯酶 I（蛇毒） Ⅱ-2(1)-0055

Phosphodiesterase I(*Crotalus adamanteus* Venom)

别名 5′-Exonuclease, Venom exonuclease, Oligonucleate 5′-nucleotidohydrolase

EC 3.1.4.1

分子量 115000

酶反应

3′-OH端核糖寡核苷酸 $\xrightarrow{磷酸二酯酶I}$ 5′-单核苷酸
3′-OH端脱氧核糖寡核苷酸

ADP-核糖-蛋白质 $\xrightarrow{酶裂解在焦磷酸键}$ 磷酸核糖AMP

单位定义 在25℃，pH8.9，1分钟水解1μmol胸苷-5′-磷酸-对硝基苯酯的酶量为1单位。

理化性质 此酶是糖蛋白，与伴刀豆球蛋白A结合。

激活剂 此酶绝对需要Mg^{2+}，其最适浓度为15mmol/L。

抑制剂 还原剂如谷胱甘肽，半胱氨酸和抗坏血酸。5mmol/L EDTA完全抑制，而ATP，ADP和AMP则部分抑制。此酶广泛用于核酸结构的研究，用作顺序测定的工具。

理化参数 最适pH9.8～10.4。

制备方法[1] 商品蛇毒核酸外切酶（含杂质5′-核苷酸酶活力）经37℃，pH3.6保温3小时后，杂酶的活力减少100至1000倍，而核酸外切酶的活力则没有丧失。

5mg制剂溶于0.6mL水中（在原瓶中进行），加入0.25mL1%乙酸。瓶子浸入37℃水浴中保温3小时。再移入冰浴内，加0.1mL1%氢氧化铵。此时溶液pH为7.3，最后容积为0.95mL。当保存于4℃两周，核酸外切酶活不下降。冷冻干燥可制得干酶而不损失活力，但是pH不能低于5.5，可加入缓冲液或加氨水以维持，还要严格控制冻干的时间。

参 考 文 献

〔1〕 Sulkowski E. and Laskowski M.;Sr.: *Biochim. Biophys. Acta*, 240, 443(1971).

磷酸二酯酶Ⅱ（小牛脾） Ⅱ-2(1)-0056

Phosphodiesterase Ⅱ (calf spleen)

别名 PDE Ⅱ 3′-Exonuclease; Spleen exonuclease; Oligonucleate-3′-nucleotidohydrolase

EC 3.1.16.1

酶反应

核糖寡核苷酸 $\xrightarrow{从5′-OH端顺序酶切磷酸二酯酶Ⅱ}$ 3′-单核苷酸（对嘌呤和
脱氧核糖寡核苷酸 嘧啶碱基无专一性）

单位定义 在37℃，pH6.5，以核糖核酸为底物，30分钟增加A_{260nm}光吸收2.0的酶量为1单位。

理化性质 此酶对嘌呤和嘧啶碱基无专一性。不加Mg^{2+}时pH6.6；在0.02mol/L氯化镁时，pH5.8。

制备方法[1] 小牛脾从宰牛后，立即取出，用冰保护。除注明外，所有操作在0～3℃进行。

制成丙酮粉后，第2、3步在1天内进行，让第3步的第2次过滤进行过夜。

1. 丙酮粉抽提液 剥去脾脏外膜，切成小块。100g组织和100mL冷水、100g碎冰和200g17%蔗糖在捣碎机中混合。捣碎2分钟。共捣碎2kg组织。匀浆离心（1300×g，10分钟）以除去粗的结缔组织和细胞碎屑。浑浊的上清液（8.8L）用65mL2mol/L乙酸调节至pH5.1，离心（1700×g，30分钟）。上清液弃去，用等容积的8.5%蔗糖洗涤沉淀。沉淀悬

浮于5倍容积的丙酮（-10℃）中，在捣碎机内捣15秒使成匀浆。悬浮液在布氏漏斗上抽气过滤，并用冷丙酮（-10℃）洗几遍。至少要用5倍容积的丙酮以悬浮沉淀；否则过滤可能很慢。沉淀饼可弄碎，铺成薄层在室温干燥过夜。丙酮粉（约250g）保存于3℃。

2．抽提　140g丙酮粉用2.8L 0.2mol/L乙酸缓冲液（pH6.0）3℃抽提30分钟；1250mL的缓冲液在15分钟连续搅拌下加入丙酮粉中。加入剩余的缓冲液，悬浮液在剩余的15分钟不时混合。不溶物离心（13000×g，8分钟）除去。

3．第一次硫酸铵分级　加466g硫酸铵至2.4L抽提液中，混合物用140mL 2mol/L乙酸调节pH至4.9，并再加190g硫酸铵。混合物放置20分钟后用几个折叠滤纸过滤，弃去沉淀。滤液（2735mL）和427g硫酸铵温合，放置30分钟后，混合物用32cm折叠滤纸过滤。刮下沉淀，并溶于0.05mol/L乙酸缓冲液，pH6.0中至容积为350mL。

4．加热和透析　加173.5mL蒸馏水（2℃）至第3步溶液（347mL）中。如果需要，加入1mol/L乙酸调pH至5.2。溶液置沸水浴中加热至55℃（需要1分钟），并在此温度维持5分钟，再快速地在冰水浴内冷却。悬浮液离心（13000×g，8分钟）。在缓和搅拌下上清液对流动蒸馏水（3℃）透析7小时。透析时产生的沉淀离心（13000×g，8分钟），除去沉淀。

5．第二次硫酸铵分级　第4步所得上清液528mL用8.8mL 0.2mol/L氢氧化铵调pH至8.0并和854mL饱和硫酸铵溶液（2℃，预先以氨水调至pH8.0，其pH用pH计测定，样品先用5倍冷水稀释）混合。20分钟后，沉淀离心（13000×g，8分钟）收集。将沉淀溶于0.01mol/L琥珀酸钠-盐酸缓冲液（pH6.5）中。

6．丙酮分级　第5步溶液108.5mL用1.0mL 1mol/L乙酸调pH至5.2，并加入2.2mL 2mol/L乙酸缓冲液，pH5.2，使乙酸盐浓度达0.05mol/L。放在一个-10℃的乙醇-冰浴中，在快速搅拌下，在10分钟内加43mL丙酮（-10℃）。溶液的温度保持刚好在其凝固点之上直至达-10℃。混合物在-10℃放置10分钟后，离心（1350×g，5分钟），沉淀弃去。缓慢（10分钟内）加入40mL丙酮（-10℃）至上清液（-10℃）中，在-10℃放置10分钟后，同前收集沉淀，并溶于0.01mol/L琥珀酸钠-盐酸缓冲液（pH6.5），至容积为46mL。浑浊液离心（13000×g）7分钟，沉淀弃去。

7．氧化铝凝胶处理　第6步的上清液（44mL）用1.0mL 1mol/L乙酸调节pH至4.8。加入0.6倍容积的老化氧化铝凝胶$C_γ$(干重，9.9mg/mL)到上述溶液中。准确的凝胶用量先以小量试验。应该有90～95%活力被吸附。充分温合后，悬浮液离心（13000×g，2分钟），弃去上清液。凝胶沉淀依次用46mL冷蒸馏水、46mL 0.001mol/L焦磷酸钠缓冲液(pH8.5)洗涤。酶活力用46mL 0.01mol/L焦磷酸钠缓冲液（pH8.5）洗脱。溶液用1.3mL 0.2mol/L盐酸调节pH至6.9。

脾磷酸二酯酶的纯化

步　　骤	体积，mL	总单位，U	总产率，%	比活，U/mg蛋白
匀浆①	—	—	—	0.3
丙酮粉抽提	2,400	13,700	—	1.1
硫酸铵，pH4.9	350	9,660	71	3.0
加热与透析	546	5,590	41	4.7
硫酸铵，pH8.0	114	3,640	27	16.0
丙酮	48	2,620	19	26.6
氧化铝凝胶$C_γ$	47.5	1,093	8	60.5

① 第1步的活力大部分来自其他二酯酶，因此总产率计算中不用此步。

贮存 冻干粉保存于-20℃，6～12个月稳定。纯化酶当加热至60℃，pH7.1或3.3时迅速丧失活力。5分钟后只剩20%活力，而更长时间的加热导致更大的损失。保存于-10℃，第7步产物失活缓慢，3个月后，仍保留80%活力，1年后至少还有50%活力。第4和第6步制品在-10℃失活相当快，在-10℃可保存数天。但硫酸铵分级部分（第3和第5步）在此温度是很稳定的，可保存数月。

参 考 文 献

〔1〕 Meister A.:"Biochemical Preparations",Vol 8, John Wiley and Sons, Inc., New York. London, 105,1961.

磷酸葡糖异构酶（酵母） Ⅱ-2(1)-0057

Phosphoglucose isomerase

别名 PGI; Glucose-6-phosphate isomerase; Lohman's isomerase; D-Glucose-6-phosphate ketol-isomerase

EC 5.3.1.9

分子量 约145000(酵母)

130000～140000（兔肌）

酶反应

D-葡糖-6-磷酸$\rightleftharpoons$D-果糖-6-磷酸

单位定义 在25℃，pH7.0，1分钟转化1.0μmol的D-果糖-6-磷酸为D-葡糖-6-磷酸的酶量为1国际单位。

理化性质 它以结晶形式从兔骨骼肌、牛肉、猪、面包酵母、酿酒酵母和豆中分离。此外，在自然界中它广泛存在于许多动物的许多组织中。在医疗诊断中，病员身体内PGI的含量升高与癌症有关。

抑制剂 竞争性抑制剂有6-磷酸葡糖酸盐。还有许多磷酸化合物。

理化参数 $S^{0}_{20,w}$7.6S，$D^{0}_{20,w}$5.1，假设$\bar{v}$0.749。等电点（酿酒酵母同工酶A，B，C）分别为5.4，5.2和5.0。

制备方法[1] 从酿酒酵母中制取结晶磷酸葡糖异构酶，包括下列步骤：在0.2mol/L碳酸氢钠的自溶，用乙酸锌及硅酸铝处理以除去无活性蛋白，在Mg^{2+}存在下用丙酮和乙醇分级，酶吸附在DEAE-纤维素上，并用0.1mol/L磷酸盐（pH6.0）洗脱，和从硫酸铵溶液中结晶与重结晶。所有操作（注明者除外）都在2℃冷室或冰浴中进行。

（1）干燥酿酒酵母600g在瓷研钵中磨成细粉末，在剧烈搅拌下悬浮于3L，40℃预热的0.2mol/L碳酸氢钠中。在室温下搅拌30分钟，在36℃保温5小时后，离心（12000×g，20分钟）除去细胞碎屑。所得棕黄色稍许浑浊溶液（Ⅰ部分）的容积约为碳酸氢盐溶液的3/4。

（2）加等体积的冰冷蒸馏水至Ⅰ部分中，随后再加一定量1mol/L乙酸锌，使其最后浓度达0.1mol/L。此时pH从7.1下降至5.6。加约650mL冰冷1mol/L氢氧化钠以调节pH至8.5。继续在0℃搅拌30分钟，离心（12000×g，20分钟）除去白色沉淀。清黄色上清液（Ⅱ部分）的pH为约8.4，容积约5L。

（3）用30～40mL冰冷2mol/L乙酸以调节Ⅱ部分pH至7.5，在剧烈搅拌下，加硅酸铝（15g/1g蛋白）。继续搅拌30分钟，悬浮液离心（12000×g，30分钟）。上清液（Ⅲ部分）

是清亮的，有一点绿黄色。

（4）由于硅酸铝处理的结果，Ⅲ部分的蛋白浓度仅为0.5mg/mL或更低。加入等体积－10℃的丙酮，在－10℃浴中进行，在加入的期间要极为小心，样品温度不能高于0℃。溶液在－10℃保持30分钟再离心（12000×g，15分钟，－10℃）以收集沉淀。沉淀溶于0.05mol/L乙酸镁（Ⅲ部分的$\frac{1}{50}$～$\frac{1}{40}$量），混合物搅拌约2小时直至得到均一的悬浮液。此步应严格保持0℃或略低些，否则高浓度的丙酮将使酶变性。悬浮液离心（12000×g，20分钟，－5℃），弃去沉淀，淡黄色上清液为Ⅳ部分。

（5）Ⅳ部分的蛋白浓度应为5～8mg/mL。（约8）用冰冷2mol/L乙酸（约需Ⅳ部分的$\frac{1}{100}$量）调节至pH6.0。在－10℃浴中有效的搅拌下，缓慢地加入冷95%乙醇使其浓度为10%（v/v对95%乙醇而言），小心使物液温度不高于0℃。加完乙醇30分钟后，离心12000×g，20分钟，－10℃）。弃去沉淀，上清液的乙醇浓度缓慢地增加至23%。溶液再在－10℃浴保持30分钟，离心（12000×g，20分钟，－10℃）。沉淀悬浮于0.05mol/L乙酸镁（Ⅳ部分容积的1/4），并搅拌30分钟，不溶物离心（12000×g，15分钟）除去。上清液在2℃对3×6L蒸馏水透析过夜。淡黄色溶液为Ⅴ部分。

（6）测定Ⅴ部分的总蛋白，由此计算出所需量的DEAE-纤维素（20g干交换剂/g蛋白）吸附饼。纤维素滤饼预先以0.005mol/L磷酸钠（pH5.6）平衡，Ⅴ部分吸附在交换剂后，再以同上溶液洗涤之（50mL/g干DEAE纤维素），结果大部分的黄色杂蛋白除去。酶用0.1mol/L磷酸盐（pH6.0）分5部分（mL/g干DEAE纤维素）1,5,5,2.5和2.5洗脱。每一次缓冲液流过纤维素饼后，轻度抽气使大部分液体抽出。通常第一次和最末一部分仅含很小量的酶，可以弃去。余下的洗脱物合并，得到几乎无色的Ⅵ部分。

（7）Ⅵ部分酶的浓缩通过对饱和硫酸铵透析至少12小时，离心收集沉淀(30000×g，2小时)。沉淀溶于小量的冷0.01mol/L磷酸钠缓冲液（pH7.0）中使最终蛋白浓度为15～20mg/mL。稍许黄色溶液为Ⅶ部分。比活应在350～400U/mg，否则重复DEAE-纤维素吸附纯化。

（8）结晶。测定Ⅶ部分的硫酸铵浓度，并缓慢地加入中和的硫酸铵溶液使酶液（其蛋白浓度应相对地低，约8～10mg/mL，太高则不会得到结晶）的饱和度达0.58。可能会出现一些浑浊，立即离心（25000×g，15分钟）。硫酸铵饱和度逐渐增加，每次饱和度增高0.005，一天不超过0.01，直至达0.63。在饱和度0.58～0.60之间，酶最初以无定形或以半结晶颗粒的形态沉淀而出。慢慢在连续加入硫酸铵后转变成非常细的针状结晶。结晶过程正常地要在约二周后完成。

（9）重结晶。结晶悬浮液离心（30000×g，至少1小时），母液用移液管取出。结晶溶于1/4结晶悬浮液容积的0.01mol/L磷酸钠缓冲液（pH7.0）中。估计沉淀中硫酸铵的饱和度，同前加入中和的硫酸铵饱和溶液。对至少头3次结晶，最好用离心（30000×g，5分钟）除去0.58饱和度时出现的最初浑浊。第3次结晶以后，结晶以类似第一次结晶的形式出现，不过硫酸铵饱和度的上限可以从0.63降至0.62。

正常地需要5次结晶直至酶的比活不再增加为止。纯化酶比活为650～700μmolU/mg（测定在30℃，以NADP-G-6-P脱氢酶系统）。

贮存 －20℃保存。

参 考 文 献

〔1〕 Nakagawa Y. and Noltmann E. A.: *J. Biol. Chem.*, 240,1877,(1965).

多核苷酸激酶（T_4噬菌体感染*E. coli*） Ⅱ-2(1)-0058

Polynucleotide kinase

别名 ATP：5′-dephosphopolynucleotide 5′-phosphotransferase

EC 2.7.1.78

分子量 140000±14000；变性后33000

酶反应 此酶催化ATP的γ-磷酸加到单链和双链DNA，RNA和合成的多聚 核苷酸。

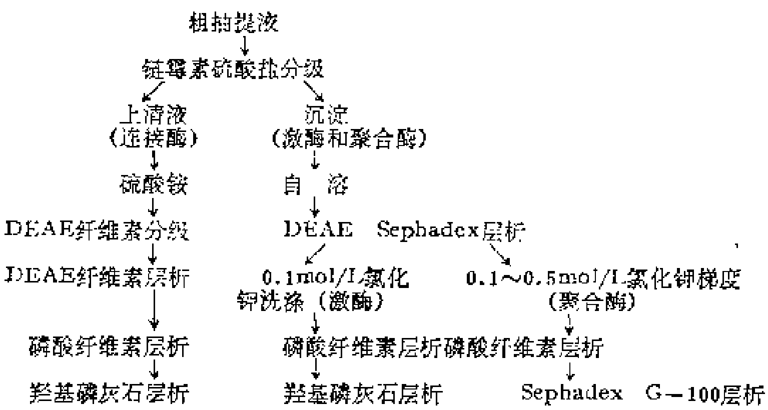
单位定义 在37℃，以微球菌核酸酶处理DNA作模板，30分钟参入1nmol^{32}P 的酶量为 1 单位。

理化性质 激活剂为多胺类，二价阳离子（Mg^{2+}），还原的条件用二巯基苏糖醇或巯基乙醇。抑制剂为磷酸盐和硫酸铵。

理化参数 最适pH为7.6。

制备方法[1] *E. coli* B62株长在3×D培养基上至细胞密度为5×10^8/mL，然后用T_4amN82噬菌体感染，增殖度为5:8。感染30分钟后，培养物在冰上快速冷却，细胞用连续离心机离心收集。

可以从中同时纯化多核苷酸连接酶、多核苷酸激酶和DNA聚合酶。见下列示意图：



制备方法[1] 所有步骤在4℃进行；离心10000 g，15分钟。

1. 粗抽提液 T_4amN82噬菌体感染过的*E. coli*细胞和氧化铝（1 g 细胞：2 g 氧化铝）研磨直至得到滑浆状。从200 g 细胞所得到的浆悬浮于 800mL 的 TG(50mmol/LTris-盐 酸（pH7.6）和1mmo/L谷胱甘肽）缓冲液中，抽提液离心收集。浆状物再用 400mLTG 缓冲液抽提 2 次。

2. 链霉素分级 加入5%硫酸链霉素溶液到粗抽提液中使之达0.7%。离心，上清液含多核苷酸连接酶，留作纯化此酶之原料。沉淀则用作多核苷酸激酶和 DNA 聚合酶纯化用。

3. 连接酶和DNA聚合酶的分离 从硫酸链霉素分级所得沉淀，借助匀浆器重新悬浮于0.1mol/L磷酸钾（pH7.4）－0.01mol/L2-巯基乙醇中，进行自溶直至95%的紫外吸收物在

260nm成为酸溶性为止。离心后，上清液进行硫酸铵分级，多核苷酸激酶和DNA聚合酶都在硫酸铵饱和度为0.30～0.50条件下沉淀。

这两种酶通过DEAE-Sephadex柱层析分离。重新悬浮的硫酸铵沉淀对0.01mol/L磷酸钾（pH7.5）-0.01mol/L2-巯基乙醇透析，注入DEAE-Sephadex柱（3.5×30cm），柱预先用与透析相同缓冲液平衡。柱用平衡缓冲液洗直至流出液的O.D.＜0.03为止。多核苷酸激酶用含0.1mol/L氯化钾的平衡缓冲液洗脱。DNA聚合酶活力采用梯度0.1～0.5mol/L氯化钾在平衡缓冲液中洗脱。T_4DNA聚合酶在0.26mol/L氯化钾从柱中洗脱出来。

4. 多核苷酸激酶纯化　通过磷酸纤维素柱层析和羟基磷灰石柱层析。所有溶液都加ATP(0.1mmol/L)以稳定酶。有时多核苷酸激酶会污染有核酸酶，可能是3′-核酸外切酶。可以通过Sephadex G-100凝胶过滤以分离掉。柱预先用50mmol/L Tris(pH7.6)，5mmol/L二巯基苏糖醇,0.1mmol/L ATP和5%蔗糖平衡。激酶在此柱是排出的，而后者（核酸外切酶，分子量约40000）则留在柱上。加鱼精蛋白至最后浓度为2mmol/L完全抑制核酸酶活力，而多核苷酸激酶活力则增加。

用途　此酶在核酸顺序研究中，用于标记核酸的5′-端以及用于连接酶和限制性内切酶测定。

贮存　-20℃保存。

参考文献

〔1〕 Panet A., et al.; *Biochemistry*, 12,5045(1973).

蛋白酶A（发面酵母）　　Ⅱ-2(1)-0059

Proteinase A

别名　肽链内切酶；Endopeptidase；Intracellular acid enzyme

EC　3.4.22.9

分子量　60000

酶反应　蛋白酶A是细胞内的酶，能水解肽链。

单位定义　在25℃，pH6.0，1分钟将水解后在A_{280}光吸收相当于1μg L-Tyr的酶量为1单位。

理化性质　是一个与糖或其他非氮组分结合的蛋白质。氮含量为14.3g/100g干重；己糖含量（以甘露糖计）9.69%，以干重计。对乙酰-L-酪氨酸乙酯和苯甲酰-L-精氨酸乙酯不水解。无抑制剂。在pH5，45℃稳定。

理化参数　pI3.8；$A^{1\%}_{280nm}$11.9；最适pH3（以盐酸-血红蛋白作底物）；$S_{20,w}$3.3S。

商品为含50%蛋白的冻干固体，平衡物主要为柠檬酸钠，pH5.0。

制备方法[1]

1. 酵母自溶液　21kg压缩面包酵母用9.6L三氯甲烷进行质壁分离，并依次地在pH7和pH5自溶。自溶液18L调pH至7.0，对自来水透析（室温，20小时）。

2. 蛋白酶A和C在DEAE Sephadex A-50上吸附透析液24L和200g DEAE Sephadex A-50在室温搅拌30分钟，不时地调pH至7.0。透析液中蛋白酶A和C的90%以上的活力吸附在DEAE Sephadex A-50上。吸附剂从上清液中分离出来，用含0.1mol/L氯化钠的0.01mol/L磷酸钠缓冲液（pH7.0）洗涤几遍，过滤，最后装入8cm直径的玻璃柱内。大部分的蛋白酶B能从吸附剂中被洗掉。柱用0.45mol/L氯化钠溶液在0.01mol/L磷酸钠缓冲液（pH7.0）洗脱。淡黄色的第一部分洗脱物弃去，接下去的2000mL深棕色洗脱液收集。

以上骤中，大量的核酸和色素吸附在柱的顶端而被除去。

3．乙醇分级　洗脱液2000mL在－5～－10℃加两倍容积的99%乙醇。沉淀离心（3000转/分钟，15分钟，－10℃）收集后，沉淀溶于小量的水中，在5℃对含0.15mol/L氯化钠的0.01mol/L磷酸钠缓冲液（pH7.0）透析过夜。

4．第一次DEAE-Sephadex A-50层析　透析液（400mL，总蛋白4.8g）注入DEAE-Sephadex柱（4×17.5cm，预先用透析的同样缓冲液平衡过）。用0.15～0.45mol/L氯化钠线性梯度在0.01mol/L磷酸钠缓冲液（pH7.0）洗脱。蛋白酶A和蛋白酶C能彼此完全分离。分别合并，用乙醇分级，再同上法透析。产量为蛋白酶A部分，50mL，总蛋白277mg；蛋白酶C部分，70mL，总蛋白714mg。

5．第二次DEAE Sephadex层析　两种酶的透析液重新分别上DEAE Sephadex A-50柱（1.7×12.5cm），条件同第一次层析。蛋白酶A峰仍含杂蛋白，而C则是均一的。分别合并，用乙醇同前分级，对蒸馏水在5℃透析3天。蛋白酶A是柱层析均一的。

酵母蛋白酶A的纯化

步　　骤	容积mL	总蛋白mg	蛋白酶单位		产率%
			总PU ×10³	PU/mg 蛋白质	
pH7自溶	18000	391000	11.5	0.74	---
pH5自溶	18000	250000	20.2	2.05	100
透析	24000	179000	19.4	2.67	95.3
DEAE-Sephadex处理	2000	11720	17.1	36.1	84.5
乙醇沉淀	400	4824	12.8	66.0	64.5
DEAE-Sephadex　1次层析	200	336	10.7	762	50.8
乙醇沉淀	50	277	9.4	833	45.6
DEAE-Sephadex　2次层析	150	169	8.6	1265	42.7
乙醇沉淀	16	153	8.4	1350	41.3

贮存　－20℃保存。

参　考　文　献

〔1〕 Hata T., Hayashi R., and Doi E.: *Agr. Biol. Chem.*, 31, 357(1967).

蛋　白　酶　K　　　Ⅱ-2(1)-0060

Proteinase K (*Tritirachium album*)

别名　Protease Type XI

EC　3.4.21.14

分子量　约18500±500（凝胶过滤法）

酶反应　蛋白酶K具有水解角蛋白的作用。此酶的特性是它能水解天然蛋白质。

单位定义　在25℃，pH7.0，1分钟水解1μmol的二甲基酪蛋白（Dimethylcasein, DMC）的酶量为1DMC单位。释放出的氨基用2,4,6-三硝基苯磺酸（TNBS）测定。

理化性质　此酶是丝氨酸水解酶。用圆盘凝胶电泳和等电聚焦检测，酶是均一的。抑制剂为二异丙基氟磷酸和苯甲基磺酰氟。

理化参数　PI8.9。最适pH为7.5～12.0。$A_{280nm}^{1\%, 1cm}$ 14.2。

制备方法[1]　所有纯化步骤在5℃进行。

发酵肉汁（5.0L）离心（2800转/分钟，20分钟）分离除去菌丝体。清的培养滤液（4.25L）加固体硫酸铵（285g/L）使饱和度达0.40。

沉淀用50g硅藻土过滤除去。滤液中再加入硫酸铵（243g/L）使饱和度达0.80，结果使酶沉淀。抽滤收集。滤饼溶于100mL 0.03mol/L Tris-盐酸缓冲液（pH7.5）中，并在除去不溶物后，对同样缓冲液透析。在透析酶液（160mL）中，加入预先用含5mmol/L氯化钙的0.03mol/L Tris-盐酸缓冲液平衡的15g DEAE-纤维素（湿的），混合物搅拌10分钟。大部分的黑色素吸附在纤维素上，过滤除去。淡黄色滤液（163mL）加硫酸铵（561g/L）至饱和度为0.80，沉淀的蛋白质离心收集，并重新溶解于32mL 0.03mol/L Tris-盐酸缓冲液（pH7.5）中至蛋白浓度为50～60mg/mL。对5mmol/L乙酸钙（2L）透析过夜，透析袋中有蛋白酶K粗结晶沉淀。琥珀色结晶液过滤，用总体积50mL mmol/L乙酸钙洗2次。重新悬浮于50mL mmol/L乙酸钙中，冷冻干燥得820mg蛋白。

结晶蛋白酶K的层析，820mg冻干物溶于60mL含1mmol/L乙酸钙的0.01mol/L Tris-盐酸缓冲液（pH7.5）中，并通过DEAE-Sephadex A-50柱（2.5×90cm），柱预先用同样缓冲液平衡，流速60mL/h，收集每份15mL。蛋白酶K不被吸附在柱上，但色素和酸性蛋白杂质被吸附。合并有酶活部分（210mL），加硫酸铵（561g/L）至80%饱和，离心收集沉淀。沉淀溶于40mL 0.05mol/L Tris-盐酸缓冲液（pH8.0）中。上Sephadex G-75柱，用同样缓冲液洗脱，流速70mL/h，收集每份15mL。第68～78管为活力主峰，合并(186mL)后加硫酸铵（561g/L）使酶沉淀。离心后，沉淀溶于40mL 0.05mol/L Tris-盐酸缓冲液（pH8.0）中，再通过同样的柱。单峰洗脱物（190mL）加硫酸铵至80%饱和。

用途 用于天然*m*RNA和DNA与蛋白质的分离。

贮存 －20℃保存。

参考文献

〔1〕 Ebeling W., et al: *Eur. J. Biochem.*, 47, 91(1974).

丙酮酸激酶（兔肌） Ⅱ-2(1)-0061

Pyruvate kinase

别名 PK; ATP: pyruvate 2-O-phosphotransferase

EC 2.7.1.40

分子量 237000(四聚体); 57000（亚基）

酶反应

$$磷酸烯醇丙酮酸 + ADP \rightleftharpoons 丙酮酸 + ATP$$

磷酸也可转移到ADP，GDP，UDP或CDP，其活力依此次序递减。

单位定义 在25℃，pH7.6，在ADP的存在下，1分钟从磷酸烯醇丙酮酸产生1μmol丙酮酸的酶量为1单位。

理化性质 此酶为四聚体，具有4个金属结合部位。在亚基解离时，形成一个二聚体中间物。没有共价结合辅基。4个巯基在活性部位起作用。此酶有两个结合部位，其一是核苷底物（依靠金属的），另一是受体。激活剂为绝对地需要一个二价金属离子和一个单价的金属离子。在体内Mg^{2+}和K^+满足此要求。抑制剂有Ca^{2+}，ATP（通过除去Mg^{2+}），氟磷酸和5-磷酸吡哆醛。

理化参数 $\varepsilon_{280}^{1\%}$5.4；最适pH7.5。

制备方法[1] 制备骨骼肌丙酮酸激酶大多采用兔肌作为原料。不需层析纯化，因此能在几天内用商品冻兔肉制得以克计的酶量。产物通过缓慢加入硫酸铵法使结晶比活150～300U/mg。

强壮兔子（3～4kg）速宰、剥皮。以下操作在0℃中进行。取腿肌及背肌，冷蒸馏水洗涤，冰藏，绞碎。

1. 抽提 肉碎用蒸馏水（1L/kg）充分搅匀，不时搅拌，继续抽提30分钟。四层纱布过滤，残渣尽量挤干。残渣同前抽提一次，合并抽提液，其蛋白含量约15mg/mL。

2. 硫酸铵分级 在机械搅拌下缓慢加入固体硫酸铵（320g/L，54%饱和）。搅拌30分钟后，离心（3500×g，60分钟），弃去沉淀，上清液再加硫酸铵（83.5g/L，67.5%饱和）。沉淀同前离心收集，弃去上清液。沉淀溶于含0.001mol/L巴比妥的0.02mol/L咪唑缓冲液（pH7.0）中。溶液对含0.001mol/L巴比妥的0.01mol/L Tris缓冲液（pH7.3）透析过夜。如有沉淀出现，离心除去。

3. 乙醇分级 上述酶液用同上咪唑缓冲液调节蛋白浓度至20mg/mL。在丙酮-干冰浴中冷至+2℃，在机械搅拌下缓慢地加入-10℃的乙醇使达12%（v/v）。温度逐渐下降至-5℃。搅拌10分钟后，沉淀离心（10000×g，10分钟，-10℃）。少量沉淀弃去，上清液维持-5℃加入乙醇使浓度达30%（v/v）。放置10分钟后，沉淀同前离心收集，弃去上清液。沉淀溶解并透析如2.所述。至少透析5小时，换一次缓冲液。此步通常以小批量进行。

4. 加热除去无活性蛋白 透析酶液的浓度用0.001mol/L中性巴比妥调节至20mg蛋白/mL。加入咪唑缓冲液（pH7.0），使其浓度达0.05mol/L，pH用0.1mol/L乙酸或0.1mol/L氢氧化铵调节至7.0。酶液置水浴内快速加热至60℃，并维持5分钟，溶液需连续搅拌以避免凝固。混合物在碎冰中快速冷却，变性蛋白离心除去。此步除去包括99%的肌激酶在内的2/3蛋白。

5. 在硫酸铵中加热进一步除去无活性蛋白 清酶液加硫酸铵使饱和度达0.20。pH调至7.0，溶液快速热至65℃，并维持5分钟。快速冷却，离心除去小量沉淀（肌激酶）。

6. 硫酸铵沉淀 加入固体硫酸铵（30g/100mL）到上清液中，沉淀离心收集，溶于含0.001mol/L巴比妥的0.02mol/L咪唑缓冲液（pH7.0）中，进行结晶。

最后结晶一步也可用硫酸铵分级分离所取代，取硫酸铵220g/L～330g/L部分。酶比活为180～250μmol产物/min/mg（在25℃测定）。

酶保存于20mmol/L咪唑缓冲液（pH7.0）中，1mmol/L EDTA，浓度约80mg/mL在4℃。缓冲液和硫酸铵可通过Sephadex G-25柱或在合适的缓冲液中除去。

参 考 文 献

〔1〕 Tietz A. and Ochoa S.: *Arch. Biochim. Biophys.*, 78, 477(1958).

限制性核酸内切酶 Ⅱ-2(1)-0062

Restriction endonuclease

别名 Endodeoxyribonuclease

酶反应 限制性内切酶能分裂DNA分子在一限定数目的专一部位上。它能识别外源DNA并将其降解。

单位定义 在指明的pH与37℃，在0.05ml反应混合物中，1小时消化1μg的λDNA 的酶量为1单位。

理化性质 制品不含非专一的核酸水解酶（由10单位内切酶与1μgλDNA，保温16小时所得的凝胶电泳图谱的稳定性表示）。

限制性核酸内切酶的命名；一般是以微生物属名的第一个字母和种名的前两个字母组成，第四个字母表示菌株(品系)。例如，从*Bacillus amyloliquefaciens* H中提取的限制性内切酶称为Bam H，在同一品系细菌中得到的识别不同碱基顺序的几种不同特异性的酶，可以编成不同的号，如HindⅡ、HindⅢ，HpaⅠ、HpaⅡ，MboⅠ、MboⅡ等。

限制性核酸内切酶分布极广，几乎在所有细菌的属、种中都发现至少一种限制性内切酶，多者在一属中就有几十种，例如在嗜血杆菌属中（*Haemophilus*）现已发现的就有22种。有的菌株含酶量极低，很难分离定性；然而在有的菌株中，酶含量极高，如*E. coli*的pMB_4（EcoRI酶）和*H. aegyptius*（HalⅢ酶）就是高产酶菌株。据报道从10g的*H. aegyptius*的细胞中，能分离提纯出可消化10g入噬菌体DNA的酶量。到目前为止，细菌是限制性内切酶，尤其是特异性非常强的Ⅱ类限制性内切酶的主要来源。

限制性内切酶的分类和性质：根据酶的功能特性、大小及反应时所需的辅助因子，限制性内切酶可分为两大类，即Ⅰ类酶和Ⅱ类酶。最早从大肠杆菌中发现的EcoK、EcoB就属于Ⅰ类酶。其分子量较大；反应过程中除需Mg^{2+}外，还需要*S*-腺苷酰-L-甲硫氨酸、ATP；在DNA分子上没有特异性的酶解片断，这是Ⅰ、Ⅱ类酶之间最明显的差异。因此，Ⅰ类酶作为DNA的分析工具价值不大。Ⅱ类酶有EcoRI、BamHI、HindⅡ、HindⅢ等。其分子量小于10^5道尔顿；反应只需Mg^{2+}；最重要的是在所识别的特定碱基顺序上有特异性的切点，因而DNA分子经过Ⅱ类酶作用后，可产生特异性的酶解片断，这些片断可用凝胶电泳法进行分离、鉴别。相当一部分酶（如EcoRI、BamHI、Hind等）的切口，作用点有180°旋转对称性，因而可形成粘性末端，但也有一些Ⅱ类酶如AluI、BsuRI、BalI、HalⅢ、HpaI、SmaI等切割DNA分子并不产生粘性末端，而只形成平整末端。

在已发现的限制性内切酶中，近百种酶的识别顺序已被测定。有很多来源不同的酶有相同的碱基识别顺序，这种酶称为“异源同功酶”(isoschizomer，同切限制内切酶；同裂酶)。应该注意的是，这些酶虽然有相同的识别顺序，但它们的切点并不完全一样。例如XmaI和SmaI都识别六核苷酸CCCGGG，但XmaI 的切点在C↓CCGGG，而SmaI的切点则在CCC↓GGG，前者切割DNA分子，形成带有 CCGG 粘性末端的 DNA 片段，而后者并不形成粘性末端。当然，也有识别顺序和切点都相同的酶，如HapⅡ、HpaⅡ、MnoⅠ，都在识别顺序CCGG内有一相同的切点，HalⅢ和BsuRI同样在识别顺序GGCC内有一相同的切点。

制备方法[1,2]

这类酶主要是作为工具酶用于研究核酸，而不在于对它本身的固有特性进行研究，因此，除EcoRI以外，几乎都没有制成纯品，提纯的关键是使酶制剂中不含其他非特异性核酸酶。

1. **菌体培养** 基本上按照各菌所要求的肉汤培养基进行培养，有些菌需要特殊的生长因子，如嗜血杆菌属，在培养基中需补加含X. V因子的成分（血红素、辅酶等）。一般都在37℃培养至对数后期离心收集。

部分已知识别顺序的限制性核酸内切酶识别顺序

识别顺序	酶
A↓AGCTT	HindⅢ
AAT↓ATT	SspⅠ
(ACT)AT↓CGAT(AGT)	dam+ ClaⅠ
ACCTGC↓	BspMⅠ
(ACT)CG↓CG(AGT)	M.HhaⅠ +FnuDⅡ
A↓CGCGT	MluⅠ
A↓CTAGT	SpeⅠ
A↓GATCT	BglⅡ
CATG↓	NlaⅢ
↓CC(AT)(AT)GG	StyⅠ
CC↓(AT)GG	BstNⅠ
CC↓(CG)GG	NciⅠ
CCANNNN↓NTGG	PflMⅠ
CCANNNNN↓NTGG	BstXⅠ
C↓CATGG	NcoⅠ
CCC↓GGG	SmaⅠ
CCGC↓GG	SacⅡ
C↓CGG	HpaⅡ
CC↓NGG	ScrFⅠ
C↓CTAGG	AvrⅡ
CCTC↓	MnlⅠ
CC↓TNAGG	MstⅡ
CGAT↓CG	PvuⅠ
GACGT↓C	AatⅡ
G(AGT)GC(ACT)↓C	Bsp1286
G(AGT)GC(AT)↓C	M.HaeⅢ +Bsp1286
G(AT)GC(AT)↓C	HgiAⅠ
G(AT)GCA↓C	M.AluⅠ +HgiAⅠ
GAGCT↓C	SacⅠ
G↓ANTC	HinfⅠ
(ACT)GCCNNNN↓NGGC(AGT)	M.HaeⅢ 和BglⅠ
AGG↓CCT	StuⅠ
AGT↓ACT	ScaⅠ
AT↓CGAT	ClaⅠ
ATGCA↓T	NsiⅠ
CAG↓CTG	PvuⅡ
CA↓TATG	NdeⅠ
CG↓CG	FnuDⅡ
CG↓C(AT)CCG	RsrⅡ
C↓GGCCG	EagⅠ
C↓PyCGAG	M.HpaⅡ +AvaⅠ
C↓PyCGGG	M.TaqⅠ +AvaⅠ
C↓PyCGPuG	AvaⅠ
C↓TCGAG	XhoⅠ
CTGCA↓G	PstⅠ
C↓TNAG	DdeⅠ
GAANN↓NNTTC	XmnⅠ
GAAGA↓	MboⅡ
GAATGC↓	BsmⅠ
G↓AATTC	EcoRⅠ
GACN↓NNGTC	TthⅢⅠ
GACGC↓	HgaⅠ
G↓CGCGC	BssHⅡ
GC↓GGCCGC	NotⅠ
GC↓NGC	Fnu4HⅠ
G↓CTAGC	NheⅠ
G↓G(AT)CC	AvaⅡ
G↓GATCC	BamHⅠ
GGATG↓	FokⅠ

续表

GAT↓ATC	EcoRⅤ	GG↓CC	HaeⅢ
↓GATC	MboⅠ	GGCCNNNN↓NGGCC	SfiⅠ
GATGC↓	SfaNⅠ	GG↓CGCC	NarⅠ
GC(AT)GC↓	BbvⅠ	G(GT)GC(ACT)↓C	M.AluI +Bsp1286
GCATG↓C	SphⅠ	GGGCC↓C	ApaⅠ
GCCNNNN↓NGGC	BglⅠ	G↓GNCC	Sau961
GCC↓GGC	NaeⅠ	GGN↓NCC	NlaⅣ
GCG↓C	HhaⅠ	G↓GPyPuCC	BanⅠ
GGTAC↓C	KpnⅠ	Pu↓GATCPy	XhoⅡ
GGTGA↓	HphⅠ	PuGCGC↓Py	HaeⅡ
G↓GTNACC	BstEⅡ	PuG↓G(AT)CCPy	PpuMⅠ
GPu↓CGTC	M.HhaⅠ +AhaⅡ	PuG↓GNCCPy	EcoO109
GPuGCC↓C	M.AluⅠ +BanⅡ	Py↓GGCCPu	EaeⅠ
GPuGCPy↓C	BanⅡ	TAC↓GTA	SnaBⅠ
GPuGCT↓C	M.HaeⅢ +BanⅡ	T↓CCGGA	BspMⅡ
GT↓(AC)(GT)AG	AccⅠ	T↓CGA	TaqⅠ
GT↓(AC)TAC	M.TaqⅠ +AccⅠ	TCG↓CGA	NruⅠ
GT↓AC	RsaⅠ	T↓CTAGA	XbaⅠ
G↓TCGAC	SalⅠ	T↓GATCA	BclⅠ
G↓TGCAC	ApaLⅠ	TGC↓GCA	FspⅠ
GTPy↓ACC	M.TaqⅠ +HincⅡ	TGG↓CCA	BalⅠ
GTPy↓PuAC	HincⅡ	TTT↓AAA	DraⅠ
GTT↓AAC	HpaⅠ	TT↓CGAA	FspⅡ

2. 菌体的破碎　90%以上的细菌都是用超声破碎，破碎比较完全，释放酶量高。在冰盐浴中进行间歇超声处理，使菌液温度不超过10～12℃。初次超声处理，要用显微镜检查效果。

3. 除去核酸　菌体破碎后，经高速离心所得之上清液，首先要除去核酸，通常用三种方法；第一种方法是用Bio-gelA(200～400目)柱去除核酸，BamHl、Hind、Alu、Hha、Hap都用此方法。一般是使酶液氯化钠浓度呈1mol/L通过Bio-gel A柱去除核酸，收集下柱液酶活性部分。此法的优点是效率较高，故去核酸比较干净。第二种方法是硫酸链霉素沉淀核酸，EcoRI、Sau、Bam N等用此法，一般用量为每一个1500A260nm单位加 1mL10%硫

酸链霉素。第三种方法是用聚乙烯亚胺（PE1）沉淀核酸，其方法是将PEI加入到酶液中，使其浓度为1%。在低盐浓度下，酶蛋白与PE1-DNA的复合物一起沉淀下来，收集沉淀，然后用含有适当高盐浓度的缓冲液把酶蛋白抽提出来；如果在适当的高盐浓度缓冲液中，用PEI去沉淀核酸，酶蛋白并不同PEI-DNA复合物一起沉淀而保留在上清液中，这样酶蛋白可直接从上清液中回收。

4．用硫酸铵分级沉淀法收集粗酶　在除去核酸以后，一般用硫酸铵沉淀粗酶，在提取一种新酶的时候，可用饱和度为0.7的硫酸铵把酶蛋白沉淀下来。但在有文献可查的情况下，可以参照文献提供的饱和度进行沉淀收集，然后用适量的缓冲液溶解。下表是沉淀一些酶所需的硫酸铵饱和度。

沉淀某些酶所需硫酸铵饱和度

限制性内切酶	硫酸铵饱和度,%
EcoRI	0.50
BamH1	0.50～0.80
Hind	0.50～0.70
Hae	0.70
BamN	0.40～0.60

但也有的酶如Sau、Alu、Pst等，在除去核酸以后，就直接上磷酸纤维素P_{11}柱或DEAE-纤维素柱，这种情况估计是杂质（杂蛋白）含量较低。

5．酶通过柱层析纯化　用硫酸铵沉淀所得到的粗酶溶液，一般是通过P_{11}柱或（和）DEAE-纤维素柱进一步纯化。装层析柱的树脂用酸碱处理好以后，一定要用缓冲液充分平衡。在上柱前，硫酸铵沉淀所得的粗酶溶液对上柱缓冲液透析。上柱后，吸附在柱上的蛋白质一般用氯化钠或氯化钾的浓度梯度进行洗脱，收集酶活性部分。酶从柱上洗脱下来的盐浓度如下。

一些酶洗脱下来的盐浓度

限制性内切酶	P_{11}柱	DEAE柱	缓冲液pH
EcoRⅠ	0.56～0.6mol/LNa^+	0.1mol/LNa^+	7.0
BamHⅠ	0.31～0.36mol/LNa^+	0.05～0.15mol/LNa^+	7.4
HindⅡ＋Ⅲ	0.2～0.3mol/K^+	—	7.4
AluⅠ	0.6～0.75mol/LK^+	0.21～0.26mol/L K^+	7.4
HaeⅡ	0.4～0.55mol/LNa^+	0.13～0.18mol/L Na^+	7.4
HaeⅢ	0.65～0.95mol/LNa^+	—	7.4
HhaⅠ	0.8～1.0mol/LK^+	0.45～0.50mol/LK^+	7.4
HinHⅠ	0.3mol/LK^+	0.12MK^+	7.5
HpaⅠ	0.3～0.35mol/LK^+	—	7.4
HpaⅡ	0.45mol/LK^+	—	7.4
PstⅠ	0.34～0.41mol/LNa^+	0.14～0.28mol/LNa^+	7.8

应用肝素-琼脂糖亲和层析的方法，从11种不同的细菌品系中纯化出16种酶。肝素-琼脂糖的优点是稳定性强、装柱容易、流速好、而且蛋白容量大，这样柱可装得很小(20～30mL床体积/100g湿菌)，使得回收的酶很集中，实际达到浓缩的目的。它的另一优点是非特异性的核酸酶并不吸附到柱上或在低浓度下就洗脱掉，这样获得的酶较纯，往往经此一步即可使用，从而简化了纯化过程。

6．纯化酶的浓缩　这是酶纯化的最后一步，一般有三种方法；第一，用羟基磷灰石柱

层析法，在低盐浓度下使酶蛋白完全吸附在柱上，然后用高盐浓度把它洗脱下来。在提取EcoRI时，用10mL床体积的小柱浓缩，洗脱峰很窄，浓缩的效果较好，第二，用硫酸铵沉淀，广泛应用于提纯各种蛋白质的中间过程，但在通过柱层析以后的酶液，很少用此法浓缩，Hind酶曾用此法；第三，透析浓缩法，目前应用较普遍。方法十分简便，将纯化后的酶溶液对含50％甘油的洗脱缓冲液透析，即可达浓缩之目的，一般可将酶浓缩4倍。另一个优点是，在50％甘油中的酶溶液可以在－20℃下保存6个月而不失活。缺点是没有羟基磷灰石柱浓缩效率高，在透析过程中要注意防止酶失活。

用途 用于DNA基因组物理图谱的组建；基因的定位和基因分离；DNA分子碱基序列分析；比较相关的DNA分子和遗传工程。

参考文献

〔1〕 Roberts R. J.: *CRC Critical Reviews in Chemistry*, 4, 123, (1976).
〔2〕 陈建文，静国忠：生物化学与生物物理进展，第4期，26页，1978年。

反转录酶（鸟类成髓细胞白血病病毒） Ⅱ-2(1)-0063

Reverse transcriptase (Avian myeloblastosis virus)

别名 RNA-directed DNA polymerase

分子量 160000，有二个亚基118000和68000。

酶反应

$$\begin{Bmatrix} dATP \\ dCTP \\ dGTP \\ dTTP \end{Bmatrix}_n + RNA \xrightarrow[\text{(RNA)}]{\text{聚合酶}\ Mg^{2+}} RNA-\begin{bmatrix} dAp \\ dCp \\ dGp \\ dTp \end{bmatrix}_n + (PP_i)_n$$

理化性质 纯化的DNA聚合酶可以利用不同的多聚核苷酸和多聚脱氧核苷酸作为模板。需要一引物作为DNA合成的起始。

制备方法[1]

1．纯化病毒粒子的制备 所有操作在4℃进行。含有病毒的小鸡血浆离心(90000×g，90分钟)。病毒小球重新悬浮于Tris缓冲液中，用超声处理45秒至1分钟。此步可以保藏于－70℃中。20～30mg病毒蛋白包含在1.5～2.0mL Tris缓冲液中，置于10.0mL非连续性的蔗糖梯度如：1.65mol/L，1.0mL；1.35mol/L，1.0mL；1.20mol/L，3.0mL；和0.9mol/L，5.0ml溶液中。蔗糖溶液在Tris缓冲液中。用Spinco超离心SW40转子离心3小时15分钟（154000×g)。在0.9mol/L和1.20mol/L蔗糖液界处，可以识别一厚黄色区带。在其他密度出现的带可以忽略。用注射器从梯度管壁针刺收集，并用2倍体积的Tris-缓冲液稀释，离心（135000×g，60分钟)。所得沉淀重新悬浮于小量的Tris缓冲液中，可以在－70℃保存至少6个月。

2．病毒粒子DNA聚合酶的溶解 约50mg纯化的病毒蛋白在浓度为约10mg/mL用Non-idet P-40浓度0.2％在37℃保温5分钟使胞菌完全溶解。约90～95％病毒粒子DNA聚合酶被释放。悬浮液上DEAE Sephadex柱层析。

3．DEAE-Sephadex柱层析 10g DEAE-Sephadex A-25在4℃悬浮于200mL的A缓

冲液（50mmol/L Tris-盐酸，pH7.9；5mmol/L 乙酸镁；0.1mmol/L EDTA 二钠盐；0.1mol/L β-巯基乙醇，0.2% Nonidet P-40；和25%甘油）使膨胀过夜。树脂倒入 1.5×30cm柱内至高度约为20～25cm。柱充分用A缓冲液平衡（至少20倍柱体积，流出液的pH应为约7.5，以求达到一致的洗出剖面）。病毒悬浮液上柱，用 2 倍柱体积的A缓冲液洗柱。洗脱酶用30mL A缓冲液和30mL A缓冲液+0.5mol/L氯化钾线性盐梯度。流速12mL/h（用泵），收集每份2mL，测酶活，合并高活力部分至14～16mL，为进一步上磷酸纤维素用。合并部分取样测定蛋白。酶在0.1～0.2mol/L氯化钾时被洗脱，酶活回收率40～50%。酶纯化5～10倍。

4. 磷酸纤维素层析 Whatman磷酸纤维素P-11，7.4mmol/g 按 Burgess（J. Biol. Chem. 244,6160,1969）处理，然后倒入0.9×15cm柱至高约10～12cm。柱用缓冲液B（B同A，但不包括乙酸镁而包括0.1mol/L氯化钾）平衡，约用20～30倍柱体积。从DEAE-Sephadex柱层析合并部分稀释，并上磷酸纤维素柱。柱用2～3倍体积的B缓冲液洗涤。吸附的酶用线性盐梯度（30mL B缓冲液和30mL B缓冲液+0.6mol/L氯化钾）洗脱。流速和每份收集量同DEAE-Sephadex柱层析。酶以一狭的峰，4～6mL 在约 0.3～0.4mol/L 氯化钾洗脱出来。回收率90～100%。这一步酶活提纯10～20倍。这两步酶提纯得 50～100 倍纯化酶，酶活回收率为40～50%。

磷酸纤维素层析合并部分的体积可以通过对20%聚乙二醇（在B缓冲液中制备）透析以减少。酶保存于－70℃，至少稳定 6 个月。如在37℃保温，酶迅速失活除非用模板-引物保护。酶制剂含痕量的RNA酶和DNA酶活力，可以通过上羧甲基交联葡聚糖凝胶层析或再上磷酸纤维素层析以部分除去，

参 考 文 献

〔1〕 Grossman L., and Moldave K.: "Methods in Enzymology", Volume XXIX, Academic Press, New York and London, 125, 1974.

核糖核酸酶（牛胰） Ⅱ-2(1)-0064

Ribonuclease

EC 3.1.27.5

分子量 13700；13000（沉降-扩散）；15000±1000（渗透压）

酶反应 结晶核糖核酸酶对核糖核酸有水解作用，但对脱氧核糖核酸则不起作用。比较容易水解酵母核糖核酸的嘧啶核苷酸。

单位定义 在37℃，pH5.0在260nm引起光吸收率增加1.0的酶量为 1 单位。

理化性质 结晶，极易溶于水，水溶液在 25℃ 以下是相当稳定的。加热至较高的温度逐渐丧失酶的活力。可是，失活的速度随着溶液的 pH、酶的浓度和电解质的浓度而变化。最大稳定范围在pH2～4.5之间。冷藏的干粉或结冻的溶液保存数年仍稳定。冷冻干燥和贮藏会使它凝聚。对玻璃表面有亲和力。专一地催化RNA的核糖部分 3′-与5′-磷酸二酯键的裂开，形成具有2′,3′-环磷酸衍生物寡聚核苷酸。它能被重金属离子 0.0005mol/L Mg^{2+}抑制，被NDA竞争性抑制，变性DNA的效果较之天然的尤佳。它能被三氯乙酸所沉淀，不能透过火棉胶和玻璃纸。

理化参数 $[\alpha]_D^{25}-0.47°(C=5, H_2O)$；pI7.8。其最适pH为7.7，最适温度为65℃。

制备方法[1]

1. 初步纯化　将α-胰凝乳蛋白酶原的制备中在硫酸铵0.65饱和度分离所得的滤液按105g/L加硫酸铵（最后饱和度达0.8），生成的沉淀于0～5℃沉降两天，偶尔搅拌可极大地促进沉降，在放置第一天期间除去泡沫，清晰的上清液虹吸去掉，存留的混悬液用硬滤纸抽滤，得沉淀滤饼4g（按所用绞碎胰脏1l计）。

2. 蛋白水解活性和可能存在的蛋白水解活性的去除　上述滤饼溶解于水中（5mL水/g滤饼），所得溶液倾入20mL沸腾的、事先用硫酸调至pH3.0的0.2饱和度硫酸铵溶液中，混合物于95～100℃搅拌5分钟，很快地冷却至25℃，并在20～25℃放置1小时，混悬物加硅藻土（10g/L）助滤，滤饼用小量0.2饱和硫酸铵溶液洗3次，残液弃去。滤液加硫酸铵（188g/L）使饱和度达0.5，并按10g/L滤液加硅藻土，将此混悬物抽滤，再弃去残渣。滤液加硫酸铵（210g/L）使饱和度达0.8，将生成的混悬物用硬滤纸抽滤，得滤饼约3g（按所用绞碎胰脏1L计）。滤液弃去。

上述滤饼按每g溶解于5mL水中，溶液用少数几滴5mol/L氢氧化钠调pH至4.8，加5mL饱和硫酸铵溶液，混悬液加硅藻土（1g/100mL）助滤，残渣弃去。滤液用0.5mol/L硫酸调至pH4.2，然后在搅拌下缓慢地加入饱和硫酸铵溶液（67mL/100mL滤液）使最后硫酸铵浓度为0.7饱和度。用硬滤纸抽滤，得滤饼约2g（按最初所用绞碎胰脏1L计）。滤液弃去。

3. 结晶　上述滤饼按每克溶解于1mL水中，溶液加硅藻土（5g/100mL）助滤、滤纸上的残渣用小量水洗几次然后弃去。合并滤液和洗液，加水使最后的体积成2mL，在搅拌中缓缓加入饱和硫酸铵溶液直至出现很轻微的浑浊(每100mL溶液约需40mL)，混合液的pH用少数几滴1mol/L氢氧化钠立即调至4.6，溶液迅速变清，在20～25℃放置，即有核糖核酸酶结晶逐渐生成。三天后用硬滤纸过滤得滤饼1.2g(按最初所用绞碎胰脏1L计)。滤液用0.5mol/L硫酸调pH至4.2，在搅拌下缓慢加入饱和硫酸铵溶液使达0.8饱和度，将混悬物在硬滤纸上过滤，滤液弃去，得滤饼约0.4g（按所用绞碎胰脏1L计），将此滤饼按照2.的第二段再处理，可以得到另外的核糖核酸酶结晶。

4. 重结晶　将结晶的滤饼按每克溶解于2mL水中，溶液加0.1g硅藻土助滤，残渣用小量水洗几次，合并滤液与洗液加水使成3mL，在搅拌下，缓慢加入饱和硫酸铵溶液直至溶液变成很轻度的浑浊（每10mL溶液约需4mL），将混合物于20～25℃放置，即有结晶迅速生成。两天后用硬滤纸过滤，得约0.6g结晶（每克滤饼计）。滤液调pH至4.2，缓慢地加入饱和硫酸铵溶液至饱和度达0.8，混悬物在硬滤纸上过滤，滤液弃去，得滤饼约0.3g（按每克滤饼计）。将此滤饼按3.操作，可以得到另外一部分的核糖核酸酶结晶。

5. 乙醇中重结晶　从第三次结晶的滤饼按每克溶解于1.5mL水中，溶液于0～5℃对冷水透析24小时，已透析的溶液用水稀释至5mL，冷却至5℃，在搅拌下加入60mL 5℃的95%乙醇，即有大量的无定形沉淀生成，在10～20℃放置，几小时内无定形沉淀变成纯净的扇状的玫瑰花形、长方形结晶或针状结晶，两天后用硬滤纸过滤结晶，并用冷的95%乙醇洗几次，置干燥器内用无水氯化钙干燥24～48小时，然后在室内放置24小时。每克结晶滤饼可得0.3g干燥结晶。

贮存　干粉可以在冷处无限期地贮存。

参考文献

〔1〕 Snell E. E.; "Biochemical Preparations", Vol. 3, Joby Wiley and Sons, Inc., New York; Chapman

and Hall, Limited, London, 9,1953.

核糖核酸酶A（牛胰）　Ⅱ-2(1)-0065

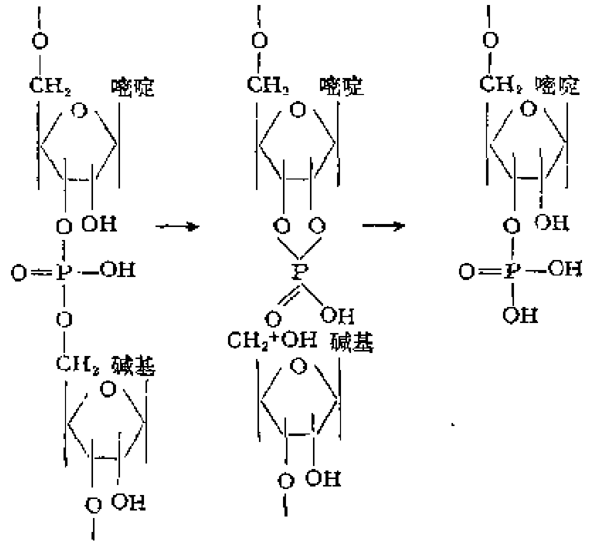
Ribonuclease A

别名 Ribonuclease Ⅰ; Ribonucleate 3′-pyrimidino-oligonucleotidohydrolase

EC 3.1.27.5

分子量 13700

酶反应



单位定义 在37℃，pH5.0，引起A_{260nm}光吸收增加1.0的酶量为1单位。

理化性质 抑制剂为重金属离子，脱氧核糖核酸，肝素和尿嘧啶核苷铵酸盐。

理化参数 $A_{280}^{1\%}$ 7.3；pI9.45；最适pH7.0～7.5。

制备方法[1] 绞碎的牛胰浸在0.125mol/L硫酸中，经过硫酸铵分级沉淀，在95～100℃，pH3加热10分钟处理，然后重沉淀。产物能结晶，并包含几个组成都具有核糖核酸酶的活力。

三种简单的层析方法用以分离核糖核酸酶(1)Hirs C. H. W. 等[2]利用羧基离子交换树脂IRC-50，用0.2mol/L磷酸缓冲液（pH6.45）作为洗脱剂。酶制剂的主要活力组分很好地被保留并被称为核糖核酸酶A。可以看到分离出几个移动得较快的峰，最靠近A的并具有最高活力的称为核糖核酸酶B。A与B之比每批不相同，可以高至10∶1。

(2) Taborsky G[3] 利用羧甲基纤维素作为离子交换剂，在Tris缓冲剂pH4时操作，用氯化钠梯度洗脱。此方法是常常有用的，因为它的分离系统是优异和可调节的。它的主峰，Taborsky称为D，即IRC-50分离系统的核糖核酸酶A。

(3) Crestfield A. M. 等[4] 利用磺酸乙基交联葡聚糖凝胶层析。

核糖核酸酶A在冷冻干燥和贮藏时，会产生不均一性。会出现凝集作用。Crestfield等人采用交联葡聚糖凝胶G-75，磺酸乙基交联葡聚糖凝胶C-25和IRC-50层析研究制备问题，他们推荐核糖核酸酶A，应以保存在－20℃的磷酸缓冲液中为佳。盐透析除去或上预先平衡的交联葡聚糖凝胶柱除去，可以用超滤法浓缩。如果需要冷冻干燥，应该在稀的不含盐溶液中进行以减少凝集的形成。凝集物可通过中性pH在60℃加热数分钟以转变成单体。

参考文献

〔1〕 Bover P. D.: "The Enzymes", 3rd. Ed., Vol. IV., p. 647, 1971.
〔2〕 Hirs C. H. W., et al.; *J. Biol. Chem.*, 200, 493(1953).
〔3〕 Taborsky G.; *J. Biol. Chem.*, 234, 2652(1959).
〔4〕 Crestfield A. M., et al; *J. Biol. Chem.*, 238, 618(1963).

核糖核酸酶A，氧化型　　Ⅱ-2(1)-0066

Ribonuclease A, oxidized

理化性质　核糖核酸酶A中，8个硫原子定量地变为8个磺酸基团，4个甲硫氨酸残基变为砜，成为没有酶活性的氧化型核糖核酸酶A，并在稀溶液中空间结构呈现无规线团(Random Coil)。

制备方法

1．制备不含氯离子的核糖核酸酶　制成10%核糖核酸酶在0.01mol/L乙酸溶液，上Dowex 2-X10柱（已预先用同样缓冲液平衡）。树脂柱1mL/1mL核糖核酸酶溶液。滤液冷冻干燥，产率95%。

2．用过甲酸氧化（-10℃和0℃）过甲酸制备如下。加0.50mL 30%过氧化氢至9.5mL 99%甲酸中，所得溶液在室温（25℃）具塞瓶子中放2小时。在另一瓶中，200mg核糖核酸酶（约含8%水分）完全溶于5.0mL 99%甲酸中，在搅拌下，加入1.0mL无水甲醇（加入此试剂是为了在-10℃氧化时溶液不致结冻）。所用过甲酸是12倍把所有胱氨酸转变为半胱磺酸，并把所有甲硫氨酸转变成砜所需量。蛋白质溶液和过甲酸分别移至有两个支管的具塞试管中。反应物在-10℃（或0℃）冷却30分钟，然后使它们混合。在同样温度下，反应进行2.5小时。管内物用50ml冰水洗入含有350mL 0℃水的瓶内。稀溶液立即结冻，冷冻干燥除去溶剂。残留物溶于40mL水中，用40mL水把它移至一较小的瓶内，再次冷冻干燥。

贮存　用此方法所得粉末保存于4℃待用。定性测定残留过氧化物为阴性。经保存1, 2, 和4星期后，其氨基酸组成无变化。

参考文献

〔1〕 Hirs C. H. W.; *J. Biol. Chem.*, 219, 611(1956).

核糖核酸酶T_1　　Ⅱ-2(1)-0067

Ribonuclease T_1 (*Aspergillus oryzae*)

别名　Guanyloribonuclease; Ribonucleate 3′-guanylo-oligonucleatidohydrolase

EC　3.1.27.3

分子式

$Asp_{15}Thr_6Ser_{17}Glu_{10}Pro_4Gly_{12}Ala_7(Cys-)_4Val_7Ile_2Leu_3Tyr_8Phe_4$

$Lys_1His_3Arg_1Trp_1(-CONH_2)_{11}$

分子量　约11000（11085）

酶反应　高度专一的核酸内切酶，酶切核酸（或脱氨核酸）在GMP的残基（或次黄苷和黄苷残基）3′-磷酸和邻近核苷酸的5′-OH残基之间的键，形成相应的2′,3′-相应环磷酸中

间体。

单位定义 在37℃，pH5.0，从酵母RNA产生酸溶性寡聚核苷酸在15分钟引起A_{260nm}光密度增加1.0的酶量为1单位。

理化性质 核糖核酸酶T_1是一个有105个氨基酸，但不含糖的蛋白质。

激活剂为组氨酸和EDTA（它能螯合渗杂的抑制离子）。

抑制剂有Ag^+，Zn^{2+}，Cu^{2+}，和Hg^{2+}，其浓度为1×10^{-3}mol/L强烈地抑制。

理化参数 含氮量16.6%。$A^{1\%}_{278}$19。pI2.9。最适pH7.5。

制备方法[1]

1．抽提 1kg高峰淀粉酶（含约3000×10^3U的核糖核酸酶T_1）用4L水抽提，抽提液分20份热处理。在pH1.5剧烈搅拌下热至80℃维持2分钟，并快速冷至室温。热处理过的抽提液过滤，残渣用水抽提以回收剩余的酶。

2．硫酸铵分级沉淀 合并抽提液，调pH至6.0，加入固体硫酸铵至饱和度为0.6，放置几小时。上清液过滤并在pH4.0使饱和。沉淀再用水抽提并对冷水透析，并同前再经一次硫酸铵分级纯化。沉淀的抽提液，对冷流动自来水彻底透析过夜，并深冻保存或进一步用磷酸钙凝胶处理。酶提纯约40～60倍，产率33～43%。

3．酸土（高岭土）处理 所加高岭土量约为酶制剂中总蛋白量的3～4倍。如果用量过多会吸附部分的酶，用0.1mol/L磷酸氢二钠可洗脱酶。12～16g高岭土在搅拌下，加至含约4g的制剂中，混合物在不时搅拌放置10～20分钟，离心除去高岭土。制剂脱色得相当好，酶活力并无损失，比活增加约两倍（至40～70U/mg）。此步处理也可用于蛋白浓度0.2～1%，盐浓度0～0.3mol/L，pH4.0～7.0的制剂，结果几乎相同。

4．DEAE-纤维素层析 20g DEAE-纤维素用2L 1mol/L氢氧化钠洗涤，再用大量水洗直至洗液无色，pH低于10。装入柱中并用约1L 0.005mol/L磷酸氢二钠洗柱。20g交换剂足够装4～5根1.5×15～20cm的柱（或两根2.5×15～20cm）。用过的交换剂同上法再生。

高岭土处理过的酶制剂通过DEAE-纤维素柱后，制剂比活250～350U/mg，再层析者400～510U/mg。酶与交换剂在盐浓度0.1mol/L以下结合，而在0.2mol/L以上洗脱。

5．高岭土处理 同前法用高岭土处理，制剂比活提高至450～540U/mg，同时也除去有色杂质。

6．硫酸铵沉淀 纯化酶在pH4.0，硫酸铵饱和度为0.7时沉淀。离心收集并溶于小量的冰冷蒸馏水中。此酶液（蛋白浓度约0.3%或以上）用稀硫酸调pH至4，在缓慢搅拌下逐渐加入pH4.0的饱和硫酸铵水溶液直至非常轻微浑浊出现。溶液在4℃放置一些时日。或者浓酶装袋对50～100倍的pH4.0的0.55饱和度的硫酸铵水溶液透析。酶以球粒样形状沉淀。离心收集沉淀，溶于小量冷蒸馏水中，以上述方式使重沉淀。

产率＞85%，比活560～600U/mg。酶制剂对冻蒸馏水透析（换几遍水），冷冻干燥。

总产量约100～200mg/1kg高峰淀粉酶。

参考文献

〔1〕 Takahashi K.; *J. Biochem.*, 51,95(1962).

核糖核酸酶T_2（高峰淀粉酶） Ⅱ-2(1)-0068

Ribonuclease T_2 (Takadiastase)

别名 Ribonuclease Ⅱ；Ribonucleate 3′-oligonucleotido-hydrolase

EC 3.1.27.1

分子量 约36000

酶反应 核糖核酸酶T_2分裂核糖核酸链不专一地在所有的磷酸二酯键上，偏重于AMP键上。因此，形成中间体2′,3′-环磷酸，再成为3′-核苷酸。

单位定义 在pH4.5，37℃，1.0mL反应容积中，15分钟产生的酸溶性寡核苷酸相当于A_{260nm}光密度增加1.0的酶量为1单位（底物为多聚5′-腺苷酸）。

理化性质 最纯化的核糖核酸酶T_2不含有其他的酶活，例如：磷酸单酯酶，磷酸二酯酶，脱氧核糖核酸酶和核糖核酸酶T_1。

稳定性 T_2酶的稳定性较T_1酶差，但是和大多数的酶相比还是相当稳定的。它对pH、对热、对冷冻干燥的稳定性如下。在微碱性pH，室温下，它较T_1酶稳定，稍许失活；在酸性pH范围，T_2酶的稳定性较T_1酶差。

核糖核酸酶T_2的稳定性

条件	pH 1.0	2.2	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.1	9.5	11.3
	HCl 0.01mol/L	0.05mol/L柠檬酸盐-磷酸盐缓冲液							0.05mol/L碳酸钠-氢氧化钠缓冲液	
25℃，23小时	24	58	74	80	92	93	95	98	92	78～70
80℃，5分钟	—	76	—	80	—	100	—	66	—	0
冷冻干燥	—	—	—	—	84	—	—	—	—	—

大约80%的核糖核酸酶T_2活力能从在中性冻结保藏数月的样品中回收；酶溶液反复结冻与解冻并不导致失活。在pH6.0冻干会失活15%。抑制剂为重金属离子，特别是Cu^{2+}；但只稍许被Mg^{2+}和Ca^{2+}所抑制。

理化参数 $s_{20,w}$ 3.6S；pI5；吸收高峰281nm，吸收低峰252nm，$\frac{A_{281nm}}{A_{252nm}}=2.52$，$A_{281,1cm}^{0.1\%}$1.99。糖含量12～15%，氨基末端为谷氨酸（Glu）或谷氨酰胺（Gln）。

制备方法[1]

1．粗抽提液 500g高峰淀粉酶粉末加入到3L蒸馏水中，离心（3000转/分钟，10分钟）。如有棕色胶状残渣留在杯底黑色泥状物之下，整个沉淀重新用2L蒸馏水同前抽提。离心（3000转/分钟，10分钟）除去泥状沉淀。清、棕红色上清液（5L）相当于约0.1mol/L盐溶液。用2mol/L氢氧化钠调至pH7.0。

2．分批用DEAE-纤维素处理 约300g DEAE-纤维素用0.5mol/L氢氧化钠洗涤，再用水洗至悬浮液pH低于9；用0.005mol/L磷酸氢二钠洗2至3遍以平衡之。加约2/3DEAE-纤维素滤饼（相当于粗抽提液中蛋白的$\frac{1}{2}$重量）加入至粗抽提液中。不时搅拌，在室温放置20分钟后，悬浮液过滤。留在上清液的活力进一步用DEAE-纤维素吸附（上述的另

1/3DEAE纤维素滤饼)，用0.35mol/L氯化钠洗脱DEAE-纤维素可回收总活力的50或60%。

DEAE-纤维素用过后，可再生如下：依次用2mol/L氯化钠，0.5 mol/L氢氧化钠，水洗涤。可以重复使用5次。

3. 热处理　富含核糖核酸酶T_2部分用2mol/L盐酸调至pH1.5～1.8。随着时间的增加有很细的沉淀形成，离心（3000转/分钟，15分钟）除去。浑浊的上清液倒入炖锅（1.5L）内，边搅拌边在沸水浴内加热直至酶液温度达78℃。在78～81℃保持2分钟，然后在冰浴内快速冷至室温。浑浊的上清液内的细沉淀加热时变大些。酶活力的回收为80～95%。这一步是使共存的脱氧核糖核酸酶，核苷酸酶和蛋白水解酶失活。

4. 硫酸铵浓缩　热处理酶液用2mol/L氢氧化钠调至pH6.0。加入固体硫酸铵（300g/L）使达0.4饱和度。置室温30分钟后，凝聚的沉淀离心（3000转/分钟，20分钟）分离。上清液用2mol/L盐酸调至pH4.0，再加固体硫酸铵使饱和度达1.0。浑浊的悬浮液置冷室过夜。棕色沉淀（含核糖核酸酶T_2和一些T_1）离心（8000转/分钟，20分钟）收集，溶于小量0.1mol/L柠檬酸缓冲液（pH6.0）中，对自来水透析过夜。

5. DEAE-纤维素柱层析Ⅰ　透析后，富含核糖核酸酶T_2溶液加入0.5mol/L磷酸氢二钠调节pH至7.0～7.5，最终浓度为0.005mol/L。

酶液（约750ml，含约8～10g蛋白）注入DEAE-纤维素柱（2.8×50cm），柱预先用0.005mol/L磷酸氢二钠平衡。用2×20mL 0.005mol/L磷酸氢二钠，把最后酶液洗到柱上。加20mL 0.005mol/L磷酸氢二钠到柱中并开始非线性梯度洗脱。混合瓶含1L 0.005mol/L磷酸氢二钠，贮液器含2L0.25mol/L氯化钠含0.25mol/L磷酸二氢钠。每份收集10mL，流速约3.5mL/min。有三个峰，前二者含T_2活力（依次为核糖核酸酶T_2-B和核糖核酸酶T_2-A）和后峰副产物核糖核酸酶T_1。T_2-A量比T_2-B大。总活力T_1与T_2几乎相等。

6. 乙醇分级　合并T_2-A部分，置冰浴内维持5℃以下，加入99.5%乙醇使达35%乙醇浓度(v/v)。置0～2℃ 20分钟后，溶液在-2℃离心（12000转/分钟，20分钟）。上清液同前法维持5℃以下，加入99.5%乙醇使达52%乙醇浓度(v/v)。大量的磷酸二氢钠和核糖核酸酶T_2一同沉淀。离心收集（12000转/分钟，20分钟）沉淀，溶于小量0.04mol/L柠檬酸缓冲液（pH6.3）中，在4℃对冷蒸馏水透析过夜。酶活力回收率约80%（约有10%的酶活力可以从52～60%部分回收）。比活30U/mg，此值可变动，视乎高峰淀粉酶粉末的质量。如果低于25，可重新进行乙醇分级。核糖核酸酶T_1和颜色杂质在52%乙醇浓度以上沉淀。

核糖核酸酶T_2-B部分同T_2-A部分一样精制。

7. DEAE-纤维素柱层析Ⅱ　透析过浅黄色核糖核酸酶T_2-A溶液加0.5mol/L磷酸氢二钠调至pH7.0～7.5，最终浓度0.005mol/L。

酶液（约15mL，含蛋白50～100mg）注入DEAE-纤维素柱（1.2×18cm）上，柱预先用0.005mol/L磷酸氢二钠平衡过。用2×5mL0.005mol/L磷酸氢二钠用以洗涤最后酶溶液至柱上。加5ml 0.005mol/L磷酸氢二钠到柱中并开始非线性洗脱。混合瓶含280ml 0.005mol/L磷酸氢二钠，而贮液器含600mL含0.15mol/L磷酸二氢钠的0.15mol/L氯化钠。每份收集约5mL，流速约1ml/1min。核糖核酸酶T_2-A洗脱下来成单峰（酶活和蛋白浓度都如此）。在有些情况下，T_2-A峰前面有一小峰，核糖核酸酶T_2-B。比活大于50U/mg的核糖核酸酶T_2-A收集，回收率50～60%。

核糖核酸酶T_2-B以同T_2-A一样的方法纯化。

核糖核酸酶T_2纯化约1000倍。无色，在层析、电泳、沉降分析上是均一的。

制自高峰淀粉酶的RNA酶T_2的纯化

部分	总蛋白，g	总活力$\times 10^3$U	比活，U/A_{280}	$\frac{pH7.5}{pH4.5}$活力比
1.粗抽提液	362	1344	0.37	2.33
2.用DEAE纤维素分批处理	276	427	0.15	1.6
3.热处理	212	422	0.20	1.44
4.硫酸铵浓缩	8.95	160	1.72	1.17
5.DEAE纤维素第一次层析峰部分	1.37	40	2.94	0.62
6.乙醇分级(35～52%)				
第一次	0.186	25	13.5	0.49
第二次	0.068	18	30.2	—
7.DEAE纤维素第二次层析峰部分	0.016	9.5	55～66	0.20

参考文献

〔1〕 Grossman L. and Moldave K.; "Methods in Enzymology", Volume XII, Academic Press, New York and London, 239,1967.

核糖核酸酶U_2

Ⅱ-2(1)-0069

Ribonuclease U_2 (*Ustilago sphaerogena*)

别名 Puryloribonuclease

EC 3.1.27.4

分子量 10000

酶反应 核糖核酸酶U_2分裂核糖核酸链在嘌呤部位，形成中间体2′,3′-环磷酸，再形成3′-嘌呤核苷酸。

单位定义 在pH4.5，37℃，1.0mL反应容积中，15分钟产生酸溶性的寡核苷酸相当于A_{260nm}光密度增加1.0的酶量为1单位。底物为酵母核糖核酸。

理化性质 核糖核酸酶U_2是一酸性蛋白。制剂中应不含5′-核苷酸酶和磷酸二酯酶。它的磷酸转移酶活力较水解酶活力大。此酶制剂的比活约为1.4×10^3单位/O. D. $_{280}$单位，相当于约$\frac{1}{5}$核糖核酸酶T_1和2×核糖核酸酶T_2。

稳定性 核糖核酸酶U_2和核糖核酸酶T_1一样稳定。在磷酸钠缓冲液（pH6.9）中加热80℃ 4分钟，完全能经受。

理化参数 它消化核糖核酸的最适pH是4.5。最大吸收值在277.5nm，最小吸收值在251 nm。$\frac{A_{277.5}}{A_{251}}=2.6$。

制备方法[1]

*Ustilago sphaerogena*在一含有葡糖，甘氨酸和矿物盐的培养基中在30℃培养60小时。细胞除去后，核糖核酸酶U_2部分粗粗地从核糖核酸酶U_1部分分离。上清液用DEAE-纤维素

分批处理。核糖核酸酶U_2的其他的蛋白杂质可通过pH4.0的CM-纤维素分批处理以除去之。所得核糖核酸酶U_2部分，透析后，上DEAE-纤维素柱层析，洗脱依次分离得到核糖核酸酶U_1，U_2，和U_3三个峰。核糖核酸酶U_2进一步在DEAE-纤维素重层析，再通过交联葡聚糖凝胶G-75凝胶过滤。用此法制得的核糖核酸酶U_2制剂纯化3700倍，产率2.6%（从*U. sphaerogena*培养液计）。

大规模纯化、重复DEAE-交联葡聚糖凝胶A-25柱层析数次，再用一次交联葡聚糖凝胶G-50柱层析。制剂比活为138，产率22%培养液的活力。

用途 它不仅是一有用工具用于核糖核酸的核苷酸顺序分析，而且也可用于含腺苷酸和鸟苷酸残基的寡聚核苷酸的合成。

参 考 文 献

〔1〕 Boyer P. D.："The Enzymes", 3rd ed., Academic Press, New York and London, 205, 1971.

T_4脱氧核糖核酸连接酶 Ⅱ-2(1)-0070

T_4 Dexyribonucleic acid ligase(T_4-infected*E. coli*)

别名 Polynucleotide ligase; Poly(deoxyribonucleotide): poly(deoxyribonucleotide)ligase〔AMP forming〕

EC 6.5.1.1

分子量 约60000～68000

酶作用 T_4核糖核酸连接酶能共价连接噬菌体λ DNA的粘性末端。

单位定义 1单位的酶活力在37℃，20分钟能从焦磷酸交换1nmol〔^{32}P〕成为碳吸附性物质。

1单位在30℃，30分钟把100nmold(A-T)$_n$转换成核酸外切酶Ⅱ抗性型。

理化性质 未稀释的酶溶液在-20℃保存是稳定的。激活剂有Mg^{2+}或Mn^{2+}。

理化参数 最适pH 7.2～7.8。

制备方法[1]

噬菌体T_4按照Cantoni, G. L. and Davies D. R.："Procedures in Nucleic Acid Research", 553, 1971。进行生殖。细胞生长和噬菌体感染按J. Biol. Chem. 243, 4543(1968)方法进行。培养物快速通过不锈钢蟠管（浸在冰浴内）收集，并离心(6000×g，7分钟)。细胞保存于-70℃。以下操作在4℃进行。除非注明，所有缓冲液含7mmol/Lβ-巯基乙醇。

1. 粗抽提液 结冻的细胞（65g）悬浮于450ml缓冲液A(10mmol/LTris-盐酸，pH 7.6，含1mmol/L谷胱甘肽以代替巯基乙醇）中，用超声波破碎10分钟(20次，每次30秒)，采用Branson W185型，最高功率。离心60分钟（100000×g）除去碎屑，用硫酸链霉素沉淀除去核酸。

2. 硫酸铵沉淀 上清液小心倾泌，并用滴加硫酸链霉素溶液以测试核酸是否沉淀完全。缓慢地搅拌加入结晶硫酸铵至饱和度0.50，混合物再搅拌30分钟。离心(15000g，20分钟)，沉淀溶于100mL缓冲液A(Ⅱ部分）中，对3×1L10mmol/L磷酸钾缓冲液含0.1mol/L氯化钾，pH7.6(缓冲液B）透析18小时。

3. 磷酸纤维素层析 制剂注入2.5×50cm磷酸纤维素柱（Whatman P-11）上，柱预先用缓冲液B平衡。柱用1L缓冲液洗涤，并进行线性梯度洗脱（总容积2L，0.1～0.8mol/L氯化钾在10mmol/L磷酸钾缓冲液，pH7.6)。分部收集和测定。合并有活力部分（>1000

U/mL)，它出现在0.30～0.36mol/L氯化钾之间，(Ⅲ部分)，对3×2L0.15mol/LTris-盐酸含0.05mol/L氯化钾，pH7.6(缓冲液C）透析18小时。

4. DEAE纤维素层析　制剂注入DEAE-纤维素柱（2.5×50cm）中，柱预先用缓冲液C平衡。用线性梯度洗脱（总容积2L)0.05～0.3mol/L氯化钾在15mmol/L Tris-盐酸，pH7.6。(Ⅳ部分)

5. 甘油浓缩　对含50%甘油的缓冲液C透析以浓缩之，保存于－20℃(Ⅴ部分)。

多核苷酸连接酶的纯化

部分		容积 mL	蛋白质 mg/mL	总蛋白 mg	活力 U×10⁻³
Ⅰ	粗抽提液	400	26.5	10,000	—
Ⅱ	硫酸铵0～50%	100	4.6	460	—
Ⅲ	P-纤维素洗脱物	255	0.15	38	3.6
Ⅳ	DEAE-纤维素洗脱物	260	0.045	11.3	1.9
Ⅴ	甘油浓缩液	68	0.16	10.9	1.7

参考文献

〔1〕 Moore S. K. and James E.; *Anal. Biochem.*, 75, 545(1976).

T₄核糖核酸聚合酶（*E. coli*）　Ⅱ-2(1)-0071

T₄ Ribonucleic acid polymerase

别名　Nucleoside triphosphate: RNA nucleotidyltransferase

EC　2.7.7.6

分子量　约500000(亚基α40000；β和β′各约160,000，σ90000)

单位定义　1单位在pH7.9，37℃，10分钟参入1.0mμmol的AMP成为酸可沉淀的产物。

理化性质　此酶有4个核亚基，α_2，β，β′和σ。

核糖核酸聚合酶的亚基结构

分离的多肽链	2α	(分子量39000±5%)
	1β′	(分子量165000±10%)
	1β	(分子量155000±10%)
	(1ω)	(分子量9000±10%)
	1σ	(分子量95000±10%)
⇅	⇅	⇅
完全酶	$\alpha_2\beta\beta'(\omega)\sigma$	(分子量490000±10%)
⇅		⇅
酶核	$\alpha_2\beta\beta'(\omega)$	(分子量400000±10%)
+	+	
Sigma因子	σ	(分子量95000±5%)

专一性为单股或双股脱氧核糖核酸，多聚脱氧核苷酸。激活剂为二价离子如Mg^{2+}，Mn^{2+}和Co^{2+}。抑制剂为多聚阴离子，利福平，曲张链菌素，链霉溶菌素和巯基试剂。

理化参数　$A_{280}^{1\%}$为6.5

制备方法[1]

1. 细胞的生长　细胞E. *coli* K-12生长可选用下列方法之一　(1)在25℃静止相，培

养基含16gDifco Bacto-胰酶解胨，10g Difco酵母抽提物和每升5g氯化钠，剧烈通气过夜。为了避免过量气泡，加入1ml防泡剂/10L。细胞在550nm光密度约16(约14g/L)，用连续离心机收集，不必洗涤置-20℃待用。(2)细胞在37℃按Richardson等方法培养，生长至3/4对数期，不必洗涤细胞。结冻保存。

2．研碎和脱氧核糖核酸酶处理　结冻的细胞（200g）用木槌使成小块，在有水夹层的1L捣碎机内捣碎（外通冰水）。加入预先冷却的玻璃珠（500g）和冷缓冲液G[0.05mol/L Tris-盐酸，pH7.5，0.01mol/L氯化镁，0.2mol/L氯化钾，0.1mmol/L二巯基苏糖醇(DTT)，0.1mmol/L EDTA，5%(v/v)甘油]200mL，细胞在低速捣匀5分钟和高速捣匀10分钟。抽提物倒入烧杯内，搅拌加入2mL新鲜制备的脱氧核糖核酸酶Ⅰ在G缓冲液中的溶液（1mg/mL），让玻璃珠沉下30分钟。这一步以及以后各步在4℃进行。上清液倾入烧杯内，珠子倒入塞有玻璃毛的大漏斗中，稍许减压使溶液滤过同时避免过量地起泡。加G缓冲液（100mL）至漏斗上，以玻璃珠搅拌，稍许地减压抽滤。合并上清液与滤液（1部分，400mL）。

3．高速离心　1．部分离心（30000转/分钟，2小时，4℃）以除去细胞碎屑和核糖体。约得320mL清、琥珀色上清液（2部分）。

4．硫酸铵分级　在搅拌下缓慢加入23.1g固体硫酸铵/100mL上述清液使达饱和度0.33。pH用1mol/L氢氧化钠以维持7（加0.05mL/10g硫酸铵）。溶液在4℃搅拌30分钟，沉淀置250mL聚碳酸盐瓶中冷冻离心（9000转/分钟，30分钟）除去。然后再加固体硫酸铵（10.75g/100mL）至上清液中使饱和度达0.50。沉淀含核糖核酸聚合酶，同上搅拌以及离心。沉淀重新悬浮于260mL内含0.42饱和硫酸铵的缓冲液A(0.01mol/LTris-HCl(pH7.9)，0.01mol/L氯化镁，0.1mmol/L EDTA，0.1mmol/L二巯基苏糖醇（DTT），5%甘油]中，（25.6g固体硫酸铵和10mL10倍浓的缓冲液A/100mL），搅拌45分钟，离心（9000转/分钟，60分钟）。沉淀含有酶，溶于缓冲液A中，稀释直至在4℃溶液（3.部分)具有电导率为1.0×10^{4}S/cm（约相当于缓冲液A+0.13mol/L氯化钾）。从200g细胞开始，约用500mL缓冲液A。

5．DEAE-纤维素层析　3.部分上DEAE-纤维素柱（100mL柱体积/200g细胞），柱用前预先以缓冲液A平衡。柱用50mL缓冲液A洗涤，然后以400mL缓冲液A+0.13mol/L氯化钾洗涤。聚合酶用300mL缓冲液C(0.05mol/LTris-HCl(pH7.9)，0.1mmol/LEDTA，0.1mmol/L二巯基苏糖醇(DTT)，5%甘油）+0.23mol/L氯化钾洗脱。合并有活力部分。

6．磷酸纤维素层析　一根50mL磷酸纤维素柱预先用缓冲液C+0.1mol/L氯化钾平衡。合并的DEAE-纤维素峰（4.部分）用足够量的缓冲液C稀释使氯化钾浓度为0.15mol/L(53mL缓冲液C/100mL4部分）上柱。柱用1-柱体积的缓冲液C+0.1mol/L氯化钾和2-柱体积的缓冲液C+0.25mol/L氯化钾洗涤。聚合酶用缓冲液C+0.35mol/L氯化钾洗脱（5.部分)。

7．琼脂糖凝胶过滤层析　磷酸纤维素柱的峰部分用1.5体积的饱和硫酸铵沉淀，沉淀加2～3mL缓冲液A使溶解。一根Bio-gel A-1.5m柱（2.5×45cm）用缓冲液A+1.0mol/L氯化钾平衡。溶解的酶（<5mL）上柱，用2mL缓冲液A+1.0mol/L氯化钾洗酶到柱中，用同样缓冲液以流速40mL/h洗脱。合并含聚合酶活力部分（6.部分)，并保存备用。产率100～300mg酶/1kg细胞

E.coli K-12 RNA聚合酶纯化总结

部　　分	总蛋白 mg	总活力 U	比活 U/mg	产率 %
DNA酶处理抽提液	25500	44300	1.7	100
高速上清液	13100	41300	3.2	95
硫酸铵部分	2790	38100	14.0	90
DEAE纤维素峰	560	46000	82.0	105
磷酸纤维素峰	63	26400	420.0	61
高盐琼脂糖峰	54	24500	453.0	56

贮藏　准备贮藏的酶用1.5倍体积的饱和硫酸铵沉淀。沉淀溶于保藏缓冲液（0.01mol/LTris(pH7.9)，0.01mol/L氯化镁，0.1mol/L氯化钾,0.1mmol/L二巯基苏糖醇（DTT），0.1mmol/LEDTA和50%甘油）中，使最后浓度为5mg/mL或更浓。此溶液在－20℃保藏时不结冻，至少能稳定6个月。

参 考 文 献

〔1〕 Burgess R. R.: *J. Biol. Chem.*, 244,6160(1969).

枯草杆菌蛋白酶BPN′

Ⅱ-2(1)-0072

Subtilisin BPN′(*B amyloliquefaciens*)

别名　BPN′; Subtilopeptidase C; Nagarse; Nagarse proteinase

EC　3.4.21.14

分子量　27532

酶反应　水解酸性蛋白的蛋白水解酶。

单位定义　在37℃，pH7.5，1分钟水解酪蛋白产生相当于1.0μmol(181μg）酪氨酸的颜色（用福林试剂）的酶量为1单位。

理化参数　pI7.8。$S^{\circ}_{20,w}$(Svedberg单位）2.72S。$D_{20,w}$ 9.04×10^{-7}。$A^{1mg/mL}_{280nm}$1.17。$[\alpha]^{10}_{589}$ －63°。

制备方法[1]　选用菌株*B. amyloliquefaciens*。采用深层培养。粗酶用硫酸铵沉淀。酶沉淀溶于水中，过滤，对0.05mol/L磷酸钠缓冲液(pH6.5)透析。透析过的酶液用磺酸型树脂，Duolite C-10柱吸附。经水、丙酮洗柱后，酶用含0.5mol/L氯化钠的磷酸缓冲液洗脱。富含酶的部分洗脱物合并，加入硫酸铵40g/100mL。加高岭土后，过滤收集含酶的沉淀。大部分的硫酸铵从沉淀中用75%丙酮在40℃洗出，残留物悬浮于0.02mol/L乙酸钠中。过滤除去高岭土后，用乙酸钠溶液洗涤，合并滤液与洗液在5～10℃加入2.5倍丙酮沉淀。离心收集沉淀，丙酮用气流除去，直至沉淀几乎溶解。不溶物除去，滴加入丙酮到浓酶液（>10%酶浓度）中直至浑浊。量15℃开始结晶，冷却至10℃放置2小时，最后置4～7℃ 2～3天。在此期间大量针状结晶形成。用55%丙酮洗涤和溶于0.02mol/L乙酸钠后，可进行重结晶。

参 考 文 献

〔1〕 Perlmann G. E. and Lorand L.: "Methods in Enzymology", Volume XIX, Academic Press, New York and London, 240,1970.

枯草杆菌蛋白酶Carlsberg　　Ⅱ-2(1)-0073

Subtilisin Carlsberg

别名　Subtilopeptidase A; Subtilisin A; Subtilisin

EC　3.4.21.14

分子量　27600

酶反应　水解碱性蛋白的蛋白水解酶。

单位定义　在30℃，pH8.0，水解碱性蛋白底物鲱精蛋白（Clupein）1分钟释放Folin阳性氨基酸和多肽相当于1.0μmol酪氨酸的酶量为1单位。

理化参数　pI 9.4；$S^{\circ}_{20,w}$（Svedberg单位）2.85；内禀粘度3.2；$A_{280}^{1mg/mL}$ 0.96；$[\alpha]_{578}^{20}$ −53°，$[\alpha]_{546}^{20}$ −62°，$[\alpha]_{436}^{20}$ −118°，$[\alpha]_{364}^{20}$ −209°。

制备方法[1]　选用*B. subtilis*菌株。培养基除含葡萄糖和盐外，还含有蛋白胨。需要剧烈通气并使用去泡剂，生长期加入葡萄糖。从最好的菌落作原料可得2g结晶酶/L培养液。离心除去菌体，四氯化碳抽提把去泡剂除去，加入硫酸钠（250g/L）和一些高岭土助滤以沉淀酶。含盐的滤饼置干燥器中干燥。

粗酶粉溶于水中，加入氯化钙使Ca^{2+}浓度为0.1mol/L。加1倍体积丙酮（室温）沉淀为深色粘状杂质，用离心以除去沉淀。上清液加入丙酮至75%（以容积计）以沉淀酶。沉淀离心收集，大部分丙酮用气流除去。沉淀溶于水中，pH降至稳定范围的下限，pH5.5以诱导结晶。为了防止过头，可用乙酸缓冲液（pH4.9）进行调节。加入硫酸钠（5g/100mL），溶液置30℃机械搅拌。慢慢加入较多的硫酸钠，如果需要，加些晶种。在硫酸钠浓度为12g/100mL，10～30小时内所有酶都结晶。将一次酶结晶重新溶解于水中，同上进行重结晶，但是由于自溶，纯度只稍提高而活力却有一定的丧失。对蒸馏水透析后，冷冻干燥可得稳定的产物，虽然透析时自溶使比活下降10～30%。并非所有酶制剂都容易结晶，重要的是细菌培养要在相对早的阶段收获，即在最高产量之前，在细菌的自溶产物严重污染培养液之前。

商品酶制剂常常含有相对高百分比的肽类物质，有时甚至高达40%。这些杂质可通过交联葡聚糖凝胶G-25或50凝胶过滤除去。

例如，100mg枯草杆菌蛋白酶溶于2mL0.01mol/L磷酸缓冲液（pH7.0），在冷室中上柱（2×25cm，交联葡聚糖凝胶G25）。柱预先用同样缓冲液平衡。洗脱仍用此缓冲液，流速约30mL/h，每部分收集3mL。紫外吸光度测定找出含酶的部分。纯酶立即保存于低温，否则又会有肽类杂质出现。如果置室温，0.5～1小时或10℃，～2小时，肽含量又会出现约5%。

参 考 文 献

[1] Perlmann G. E. and Lorand L.: "Methods in Enzymology", Vol XIX, Academic, Press, New York and London, 203, 1970.

琥珀酸脱氢酶（猪心）　　Ⅱ-2(1)-0074

Succinate dehydrogenase

别名　Succinate: (acceptor)oxidoreductase

EC　1.3.99.1

分子量 200000(牛心)；200000(发面酵母)；460000(Micrococcus lactilyticus)

酶反应

琥珀酸盐－吩嗪硫酸甲酯⟶反丁烯二酸盐＋还原吩嗪硫酸甲酯

还原吩嗪硫酸甲酯＋$2CytC^{3+}$⟶吩嗪硫酸甲酯＋$2CytC^{2+}+2H^+$

理化性质 黄素含量1mol/200000～250000g蛋白，黄素（FAD）是共价连到蛋白上。每1mol黄素有8个原子的非血红素铁。此酶含4～8个原子的不稳定硫化物/mol黄素。

此酶在室温即使保存在氮气下也非常不稳定。抑制剂为还原谷胱甘肽，二巯基丙醇，D-氯代琥珀酸盐，D-甲基琥珀酸盐，丙二酸盐，甲烯琥珀酸盐，顺丁烯二酸盐，乙酰乙酸盐和草酰乙酸盐。

制备方法[1] 整个纯化过程采用玻璃蒸馏水，所有步骤要有1mmol/LEDTA，在0～4℃中进行。尽量除去氧气，通过用焦性没食子酸纯化的氮气注满溶液，最好是把所有纯化步骤和在紧闭离心杯内离心在氮气下进行。

1．细胞色素C缺陷型心肌制剂 20只猪心除去脂肪与结缔组织，在绞肉机内绞碎。肉糜在有效的机械搅拌下，用8～10次30L自来水洗涤，每次15分钟，然后用手通过纱布挤之。最后一次所换的水应为淡黄而非粉红色。

肉糜在0℃用20 l含1mmol/L EDTA的0.15mol/L磷酸缓冲液（pH7.6）抽提过夜，纱布挤干，用自来水洗2次。

在0℃用机械研钵研磨800g湿肉碎，400mL含1mmol/L EDTA的20mmol/L磷酸盐（pH7.6），和600g酸洗过的中性沙，直至得一匀浆，通常用20分钟。加入600mL同一冷冻磷酸缓冲液并再搅拌5分钟。悬浮液在1000×g离心15分钟。

小心倾泌上清液，用1mol/L乙酸调节pH至5.7后，搅拌5分钟，离心（1500×g，15分钟）。弃去上清液，沉淀用冷水洗涤，离心（1500×g，15分钟）。沉淀置1～1.5L 50mmol/L硼酸盐～50mmol/L磷酸缓冲液（pH8.0）内捣成匀浆，最后蛋白浓度为10～15mg/mL。

制剂在0℃可保存数周。

2．可溶性酶的制备

所有步骤在缺氧中进行。

（1）溶化和凝胶洗脱。心肌制剂通过用纯化氮注满使缺氧。加琥珀酸钠至浓度为40mmol/L(颜色转为绿色)，制剂放在密封瓶内置0℃2～24小时。加至此制剂中$\frac{1}{5}$其容积的正丁醇（－20℃），并在0℃通入氮的同时搅拌或振摇30分钟。混合液置密封透明聚乙烯管，在氮下离心（1500×g，20分钟）。

离心后，可观察到三层，沉淀，清黄橙色中层和很浑的上层。小心地用可调节抽气系统抽出中层，得800～1100mL。必须避免与其他两层的污染，因为这会导致制剂的不纯。加1mol/L乙酸调节抽提液至pH6.0。加磷酸钙凝胶至最后浓度为4mg/mL。搅拌悬浮液5分钟，离心（1000×g，4分钟）。

弃去上清液，用去氧水搅拌洗涤凝胶，离心（1000×g，5分钟）。弃去上清液，离心杯内加入150～200mL80mmol/L磷酸缓冲液（pH7.6）。使杯内缺氧，密封振摇10分钟，离心（30000×g，5分钟）以除去与凝胶结合的正丁醇变性蛋白。

收集深棕色凝胶洗脱物用作进一步纯化或密封于聚乙烯管内液氮下保存。

（2）硫酸铵分级　用1mol/L乙酸调节凝胶洗脱物至pH7.2，在5分钟内氮气流在溶液上注满时加入至饱和变为0.65的固体硫酸铵（450g/L）。离心（23000×g，10分钟）。沉淀溶于30mL0.1mol/L磷酸缓冲液（pH7.6）中。加入12mL20℃饱和硫酸铵溶液（pH7.2）(用浓氢氧化铵调节)（0.3饱和度）。离心（23000×g，5分钟），弃沉淀。

加约20mL饱和硫酸铵溶液至上清液（0.5饱和度）。离心（30000×g，5分钟），弃去上清液，用滤纸除去最后痕量硫酸铵。用去氧的0.1mol/L磷酸缓冲液（pH7.6）洗沉淀(小心地放几次在沉淀上，然后除去)。沉淀溶于约3mL0.1mol/L磷酸缓冲液（pH7.6）中，置聚乙烯管内用一根自我封闭的橡胶塞住，其中插有一针。管内抽真空并重新注入氮气，反复5～6次，最后注入氮气。拔去针，保存溶液于液氮中。这样冻结的制剂至少三周内稳定。用前于0℃解冻，在氮气下离心（30000×g，5分钟）以除去稍许浑浊。

参 考 文 献

〔1〕Lowenstein J. M.: "Methods in Enzymology", Volume XIII, Academic Press, New York and London, 81, 1969.

凝血酶（牛血）　　Ⅱ-2(1)-0075

Thrombin

别名　凝血因子Ⅱa；Coagulation factor Ⅱa

EC　3.4.21.5

分子量　34000

酶反应　凝血酶是一个高度专一的丝氨酸蛋白水解酶，它水解多肽和酯键在L-精氨酸的羧基上。

单位定义　活力用NIHU/mg干重来表示。1NIH-U的凝血酶能使0.4μmol甘氨酸出现在N-末端位置。

理化性质　活化剂为25%柠檬酸盐，1%鱼精蛋白硫酸盐，木瓜蛋白酶和胰蛋白酶。后二者的活化结果造成凝血酶活力的破坏。抑制剂有抗凝血酶Ⅱ抑制凝血酶，与凝血酶形成不可逆的络合物；肝素和肝素辅因子，前者与低浓度凝血酶可逆地结合而降低凝血酶活力。水蛭素（水蛭唾液腺产生的蛋白质）是专一而快速不可逆的抑制剂。二异丙基氟磷酸与凝血酶中丝氨酸残基专一地反应并破坏其酶活性（水解能力和酯解能力）。

理化参数　最适pH为8.3～9.0。$D^{\circ}_{20,w}$为8.76×10^{-7}。$S^{\circ}_{20,w}$为3.76×10^{-13}S。

制备方法[1]

1. Stock-T和DEAE-T　首先分别把Cellex-D(DEAE-纤维素）和Cellex-P(磷酸纤维素）的细颗粒除去。Cellex-D紧紧地装成直径5cm和长7cm；Cellex-P同样处理成2.5×7cm。把它们联接起来，流速约为20mL/min(水压为5880Pa)。

柱分别用酸和碱处理，用磷酸缓冲液（pH7.0）离子强度为0.1平衡之，并联起来。

PD-T(Parke Davis凝血酶）800mg，溶于320mL平衡用缓冲液，注入Cellex-D柱上，随后用400mL同样缓冲液洗柱。Cellex-P柱拆下，用250mL磷酸缓冲液pH7，离子强度为0.15洗之。凝血酶用缓冲液离子强度1.0，$\frac{1}{2}$来自氯化钠（pH6.75）洗脱之。最初的30

ml弃去，其后的50mL收集。洗脱出的凝血酶作为Stock-T保存于4℃。这步骤可在8小时完成。当PD-T单独通过Cellex-D时，得到的凝血酶溶液称DEAE-T。

2．树脂凝血酶　PD-T，100mg在2mL中注入柱上，先用55mL离子强度0.1平衡用缓冲液洗涤，再用30mL离子强度0.3磷酸缓冲液pH7洗涤。凝血酶用缓冲液pH7.1和离子强度0.5洗脱，产率～80%原来活力。

3．磷酸纤维素凝血酶　柱1cm直径，6.75cm长用细粒Cellex-P(干重1.45g）装柱。柱用酸、碱洗涤，并用磷酸缓冲液离子强度0.1和pH7.0平衡之。用同一缓冲液10mL＋25mgPD-T注入柱上。柱用25mL离子强度0.15的磷酸缓冲液洗涤。凝血酶用离子强度1.0缓冲液洗脱，它出现在第2和第3内水体积内。产率90%以上。

贮存　＋4℃干燥保存。

参考文献

〔1〕 Perlmann G. E. and Lorand L.: "Methods in Enzymology", Volume XIX, Academic Press, New York and London, 155, 1970.

胰蛋白酶（牛胰）　　Ⅱ-2(1)-0076

Trypsin

EC　3.4.21.4

分子量　23300

酶反应　胰蛋白酶是胰脏丝氨酸水解酶。底物专一性是在带正电荷的赖氨酸与精氨酸的侧链。其产物是羧端为赖氨酸或精氨酸的肽。酶也有酯酶与酰胺酶活性。

单位定义　在25℃，pH8.2，有0.01mol/L Ca^{2+}存在下，1分钟水解1μmol对甲苯磺酰-L-精氨酸甲酯（TAME）的酶量为1单位。

理化性质　激活剂为钙离子，它阻滞胰蛋白酶的自溶，促进胰蛋白酶原的激活。抑制剂有机磷化合物如二异丙基氟磷酸（DFP）。天然胰蛋白酶抑制剂制自胰、大豆和蛋白；和银离子。

理化参数　pI10.5；最适pH8。$A_{280}^{1\%}$14.3。

制备方法[1]

1．胰蛋白酶的结晶　50g"粗胰蛋白酶原"（或30g结晶胰蛋白酶原）溶解于200mL 0.005mol/L盐酸中。将此溶液加到事先配好的冰冷混合液（100mL1mol/L氯化钙、250mL pH8.0的0.4mol/L硼酸盐缓冲液和400mL蒸馏水）中，混合液的体积用冷水调至1000mL，冷室放置24小时，加2g硅藻土在冷室过滤，沉淀弃去。滤液用2.5mol/L硫酸（约4mL）调至pH3.0，加入固体硫酸铵（242g/L）使饱和度达0.4，冷室放置两天，大量硫酸钙结晶，过滤弃去沉淀。

滤液加硫酸铵（205g/L）使饱和度达0.7，将此混合物通过硬滤纸抽滤，滤液弃去。得滤饼约50g溶于150ml蒸馏水中，在机械搅拌下从滴液漏斗缓慢地加入饱和硫酸铵溶液350mL使胰蛋白酶重新沉淀，用18.5cm直径的硬滤纸抽滤，所得沉淀按照"粗胰蛋白酶原"所描述的，用硫酸镁在0.01mol/L硫酸中的饱和溶液加以洗涤，以便除去过量的硫酸铵。将此半干的滤饼在冰水浴中按每10g溶解于冰冷的0.4mol/L(pH9.0)硼酸盐缓冲液10mL中，几乎立即出现纯净的针状结晶，混合物在冷室中放置24小时，并在冷室内用硬滤纸抽滤，所得

结晶用冷的硫酸镁在0.1mol/L硼酸盐（pH8.0）缓冲液中的0.5饱和溶液于冷室内洗涤，然后在室温用硫酸镁在0.05mol/L硫酸中的饱和溶液洗涤，得胰蛋白酶结晶15～20g。母液和洗液合并贮存，供胰蛋白酶抑制剂的制备。

2．胰蛋白酶的重结晶　将上述半干滤饼按每10g溶解于0.01mol/L硫酸10mL中，采取逐渐地混合滤饼到酸中，以避免发生泡沫。用几mL0.01mol/L硫酸洗过的折迭小滤纸过滤，滤液冷却至约5℃，用冷的0.4mol/L硼酸盐（pH9.0）缓冲溶液（每15mL滤液约用8mL）调至pH8.0（在滴试板上对0.01%酚红显桃红色，但对0.01%甲酚红则不显），几乎立即开始结晶，混合物在冷室放置24小时，按1.所描述进行收集和洗涤结晶，得胰蛋白酶结晶约10～12g。将滤饼置冷藏箱中让其干燥，然后磨成细粉存冷室。

附：用三氯乙酸纯化胰蛋白酶的方法。

当最初结晶胰蛋白酶时，部分地由于有些抑制剂存在，有时具有低的比活，这种活力通过反复的重结晶或用三氯乙酸沉淀继之以结晶，可以提高到最大值。

将10g胰蛋白酶的结晶滤饼溶解于100mL水中，加入5%三氯乙酸溶液100mL，混合物在室温放置30分钟直至沉淀将近完成，抽滤，所得沉淀含胰蛋白酶，滤液含胰蛋白酶抑制剂。

沉淀用水洗除去游离的酸。按每克沉淀溶解于0.02mol/L盐酸20mL中，室温放置30分钟，此后按所用每20mL0.02mol/L盐酸加固体硫酸铵5g，将此混合物通过折迭滤纸过滤直至清晰，沉淀弃去。再按所用每20mL溶剂，加入另外的5g硫酸铵，生成的沉淀用硬滤纸抽滤收集，滤液弃去。沉淀用硫酸镁在0.01mol/L硫酸中的饱和溶液在滤纸上加以洗涤（可参照“粗胰蛋白酶原”）。然后按每克沉淀溶解于0.5mL水中，冷却至约5℃，加入0.4mol/L硼酸盐（pH9.0）缓冲溶液0.5mL左右使溶液的pH至8.0，量出溶液体积，加入等体积的硫酸镁饱和溶液，将此混合物在5℃放置24小时，即有胰蛋白酶典型的结晶生成，照前描述进行收集和洗涤。收率比较低，每克原先的胰蛋白酶得约0.3g。

贮存　+4℃干燥保存。

参考文献

〔1〕 Colowick S. P. and Kaplan N. O.: "Methods in Enzymology", Volume Ⅱ, Academic Press, New York and London, 29, 1955.

胰蛋白酶原（牛胰）　Ⅱ-2(1)-0077

Trypsinogen

分子量　24,000

理化性质　胰蛋白酶原具有229个氨基酸残基。在pH低时是稳定的，它能以冷冻干燥粉末或在10^{-3}mol/L盐酸溶液结冻保存。酶原激活成酶包括近*N*-端的Lys_6-Ile_7键的裂解。

理化参数　pI9.3；等离子点pH9.3；$S_{20,w}$2.48～2.50；$f/f_0$1.15～1.2；$A_{1cm}^{1\%}{}_{280}$15.0。

制备方法[1,2]

1．胰蛋白酶原的初步结晶　将α-胰凝乳蛋白酶原的初步结晶最后所得滤液和洗液按每100mL用约1mL 2.5mol/L硫酸调至pH3.0，加入固体硫酸铵（每100mL 30.4g），生成的沉淀收集在硬滤纸上，滤液弃去。所得沉淀按每10g溶解于30mL水中，并用20mL饱和硫酸铵溶液处理，加2g硅藻土，将此混合物抽滤，沉淀用0.4饱和度硫酸铵溶液洗涤后弃去。量

得滤液体积并加入等体积的饱和硫酸铵溶液，混合物用18.5cm硬滤纸抽滤直至沉淀十分坚硬，将硫酸镁于0.01mol/L硫酸中的饱和溶液，倾注沉淀上形成约5mm厚的一层，并使它停留在滤饼上1～2分钟。此后，倾去硫酸镁溶液，继续抽滤直至剩余的洗液除去为止，得"粗胰蛋白酶原"，可以用作胰蛋白酶原的进一步纯化，或者将其激活成胰蛋白酶，而后是分离胰蛋白酶抑制剂。

除另有规定外，所有操作在20～25℃进行。

2. 胰蛋白酶原的结晶　粗胰蛋白酶原(30g)于2～5℃(在冰水浴内)溶解于30mL 0.4mol/L硼酸盐(pH9.0)的缓冲液中，滴加饱和碳酸钾溶液直至pH到8.0为止。量得溶液体积，加入等体积的饱和硫酸镁溶液，冷室中放置，在2～3天的过程中即有短的三棱柱结晶的胰蛋白酶原出现。如果溶液加入胰蛋白酶原的晶种，结晶就快得多，但晶形不太好。如果结晶过程延长到4～5天以上，胰蛋白酶的结晶可能出现。将酶原结晶于5℃过滤，结晶沉淀用冷的由0.1mol/L硼酸盐缓冲液制成的硫酸镁0.5饱和度溶液洗几次，最后用0.1mol/L硫酸制成的硫酸镁饱和溶液于室温中洗。将结晶置5℃干燥，并贮存于冰箱内。干燥品一般含约40%的胰蛋白酶原蛋白质和60%的硫酸镁。

尚有一种在乙醇和水混合液于4℃结晶的方法：将前面由酸性0.7饱和度硫酸铵所生成的粗胰蛋白酶原沉淀，取100g溶解于300mL水和105mL 95%乙醇中，用5mol/L氢氧化钠调pH至7.5，放置30分钟后将溶液通过硅藻土在大的砂芯漏斗上过滤，量得滤液体积，按每100mL加入14mL的95%乙醇，用胰蛋白酶原晶体接种，在4℃存放。约3天后，将结晶在硬滤纸上收集，用100mL冷的33%乙醇洗，接着很快用乙醇洗，用1:1(v/v)乙醇和乙醚洗，最后用乙酸洗。这种结晶可以在空气中干燥和在55℃真空中用无水硫酸钙干燥。得量约为11g(从100g粗胰蛋白酶原沉淀中)，将乙醇的滤液(不包括洗液)于4℃存放更多几天还可增加20%的得量。因为胰脏的胰蛋白酶抑制剂不再出现，进一步重结晶必须在低pH下进行。这是通过混悬1g干燥的结晶于4℃100mL 25%乙醇中来完成的。其pH是用1mol/L盐酸调至3.5，并且不时地搅拌20分钟，不溶物经离心除去并弃掉。加14mL 95%乙醇使乙醇浓度上升至33%。随即按每100mL溶液加1mL饱和硫酸铵溶液并用2mol/L氢氧化钠调pH至7.5，微量的沉淀迅速离心除去，将上层清液用胰蛋白酶原的晶体接种，并在4℃存放24小时，结晶用硬滤纸过滤收集，并用冷的33%乙醇洗。如果需要，可以再进行重结晶。

参考文献

[1] Colowick S. P. and Kaplan N. O.: "Methods in Enzywology," Volume Ⅱ, Academic Press, New York and London, 27, 1955.

[2] Perlmann G. E. and Lorand L.: "Methods in Enzymology," Volume XⅨ, Academic Press, New York and London, 45, 1970.

脲酶(巨豆)　　Ⅱ-2(1)-0078

Urease (Jack beans)

别名　尿素酶

EC　3.5.1.5

分子量　480000

酶反应

$$(NH_2)_2CO + 3H_2O \longrightarrow CO_2 + 2NH_4OH$$

它与谷氨酸脱氢酶（GLDH）系统反应如下

$$尿素 + H_2O + 2H^+ \xrightarrow{脲酶} 2NH_4^+ + CO_2$$

$$2NH_4^+ + 2\alpha\text{-酮戊二酸} + 2NADH \xrightarrow{GLDH}$$

$$2谷氨酸 + 2NAD^+ + 2H_2O$$

单位定义 在25℃，pH7.6，在谷氨酸脱氢酶偶联系统内，1分钟释放1μmol的氨的酶量为1单位。

理化性质 单体（α）脲酶聚合形成6-单位多聚体，分子量约3百万道尔顿。抑制剂为重金属。稳定剂为EDTA1×10^{-3}mol/L，50%甘油溶液保护脲酶结晶悬浮液4℃几个月。

理化参数 pI 5.15±0.1（可溶性脲酶）；4.75±0.05（不溶酶）。最适pH6.0。

制备方法[1] 100g巨豆粉末量1L烧杯中。加500mL32%丙酮(内含0.25mol/L巯基乙醇),溶液在搅拌下加热至35℃5分钟再进行过滤（32cm折迭滤纸）或冷藏。当100～150mL抽滤液滤过，置冰室过滤过夜（0～5℃）。酶沉淀从这第一阶段应该是完全结晶的，它可用一滴悬浮液于母液中在干涉显微镜油镜下检查。冷冻离心滤液中尿素酶结晶。倾去上清液，尿素酶结晶溶于水中。制备时所用的水应该用Pyrex玻璃蒸馏水。

重结晶 粗酶结晶溶于水（3mL水/100g巨豆粉末)。离心得清溶液，或在冰箱中过滤并反复重新滤直至滤液澄清。然后每20mL尿素酶溶液加1mL含EDTA的0.5mol/L柠檬酸缓冲液(pH6.0)。在搅拌下加入0.2倍容积的含5mmol/L巯基乙醇的丙酮。制剂置冰箱中，尿素酶的结晶在约30分钟完成。如果想增加尿素酶的得量，可靠每次加入几滴丙酮，直至丙酮浓度为约25%。

重结晶2或3次的制剂α-尿素酶在超离心和电泳行为检查是均一的。产率250mg/kg巨豆粉，比活125～150Sumner U/mg。

参 考 文 献

〔1〕 Colowick S. P. and Kaplan N. O.: "Methods in Enzymology", Yolumell, Acadewic Press, New York and London, 378, 1955.

尿酸酶（猪肝） Ⅱ-2(1)-0079

Uricase

别名 Urate oxidase; Urate: O_2 oxidoreductase

EC 1.7.3.3

分子量 125000；亚基，32000。

酶反应

$$尿酸 + O_2 + H_2O \longrightarrow 尿囊素 + H_2O_2 + CO_2$$

单位定义 在25℃，pH8.5，1分钟转化1μmol尿酸成为尿囊素的酶量为1单位。

理化性质 此酶由4个亚基所组成。每1酶分子含有1铜原子。抑制剂为尿酸的各种嘌呤类似物，氰化物和其他铜螯合剂。

稳定性 pH1.0～12.5，10分钟，0℃不致使酶失活；酶溶液（水溶液或缓冲液）蛋白浓度低至0.01%保存在2℃，过夜或结冻几天都能保持全部活力。反复结冻也不致使酶失活。如果结冻的酶存放2周以上，活力逐渐下降。

理化参数 $A_{280nm}^{1\%}$ 11.3。pI6.3。最适pH9.0。最适温度45℃。$S_{20,w}$ 5.5×10^{-13}S·$\bar{v}$0.74±

0.01；摩擦比，f/f_0 1.30±0.15。

制备方法[1]

1．抽提　从猪肝制成线粒体按Mahler等人〔J. Biol. Chem. 204,453(1953)〕方法，并制成丙酮粉。100g新鲜丙酮粉悬浮于1L 0.1mol/L磷酸缓冲液（pH7.8）中，并在0℃剧烈搅拌30分钟。离心以分离出可溶蛋白的抽提液（含粉中总蛋白的75～80%，但无尿酸酶活力）。残留物尽量除净吸附的缓冲液，重新悬浮于1000mL0.15%碳酸钠中,并剧烈搅拌30分钟。高速离心得上清液，A部分含尿酸酶活力，（比活，0.075～0.2U/mg；活力600～1200U）。

2．硫酸铵沉淀和热处理　在搅拌下缓慢地加95mL碱性（pH8.5）饱和硫酸铵溶液至A部分（600mL）。所得悬浮液高速离心20分钟，残留物弃去。加450mL饱和硫酸铵溶液至上清液中，混合物离心30分钟。小心除去残留物吸附的盐溶液，并用匀浆器把残留物很好地悬浮于180mL蒸馏水中。混合物用水浴快速升温至55～60℃，并在此温度维持5分钟。悬浮液快速冷至0℃，然后离心10～15分钟。残渣弃去；黄色上清液为B部分（500～1000U，比活，0.40～1.0U/mg）。

3．磷酸钙凝胶处理和用酸性硫酸铵沉淀　滴加44mL磷酸三钙凝胶(老化过，约20mg干物质/mL）至220mL B部分。凝胶离心除去。在机械搅拌下，分小份加入40g固体硫酸铵至上清液（256mL）内。混合物放置，再搅拌20分钟，离心（最高速，20分钟）。沉淀溶于最少量0.1mol/L碳酸钠（约需10～20mL）。此溶液为C部分（400～800U。比活2.0～8.0U/mg）。

4．对碳酸氢盐透析　C部分对50倍0.02mol/L碳酸氢钾透析12小时，再对第二次同样量的同样缓冲液透析。在此条件下酶沉淀。高速离心收集，在匀浆器内悬浮于2.0mL 1%碳酸钠，D部分（比活10～20U/mg；总活力400～750U）。

5．用叔丁醇溶解　加0.25mL混合物（叔丁醇60%－水40%）至D部分，制剂在0℃放置，不时搅拌4～6小时。然后冻结，在－12℃保存过夜，解冻，离速离心。在上清液中酶几乎定量地回收。回收物为E部分（比活20～40U/mg；总活力约400～500U）。

6．用Tris-巴比妥沉淀　E部分对0.01mol/L Tris-巴比妥（pH8.0～8.1）透析18～24小时。酶沉淀高速离心收集，然后重溶于1%碳酸钠或在0.02～0.1mol/L磷酸缓冲液（pH10.5）中。原来存在于E部分的活力的50～60%溶液为F部分（比活40～70U/mg；总活力250～450U）。

7．碱性硫酸铵分级分离　在搅拌情况下滴加饱和碱性（以氨调节pH）硫酸铵溶液至F部分。用增加盐浓度以沉淀四个部分，系统收集。离心后，这些部分溶于碱性磷酸盐或碳酸盐中，并测酶活力。最高的比活通常在当中部分的一个或两个部分。沉淀常常在硫酸铵饱和度30～35%浓度出现的为G部分（比活100～125U/mg；总活力150～275U）。

比活120～125U/mg的制剂用上述纯化步骤的任一种或几种结合重复提纯，在碱性或中性pH用盐分级，进一步等电沉淀，在有或无锌离子存在下用乙醇分级，或吸附上磷酸钙、氧化铝凝胶C_γ、或氢氧化铝凝胶柱并洗脱下来都不能进一步纯化。

纯化：总纯化倍数为1000倍（对第一次碱性线粒体抽提液而言），或4000～5000倍（对从丙酮干燥的线粒体可抽提的总蛋白而言）。总回收率：到E部分为30～80%；到G部分为10～30%。

参 考 文 献

〔1〕 Mahler H. R., et. al: *J. Biol. Chem.*, 216, 625(1955).

尿激酶（尿）　　　　Ⅱ-2(1)-0080

Urokinase

EC 3.4.21.31

分子量 约31500(S1)；54700(S2)

酶反应 尿激酶是蛋白水解酶，它活化血纤维蛋白溶酶原成血纤维蛋白溶酶。

单位定义 尿激酶的活力单位称CTA (Committee on Thrombolytic Agents)单位，1964年被采用。尿激酶也可由它水解合成底物 *N*-乙酰-L-赖氨酸甲酯（ALME）的能力来测定。1单位的尿激酶活力释放$5\times10^{-4}\mu$mol/CTAU/1min在37℃。

比活定义 0.1mL酶液中的活力单位数与同一酶液在280nm光吸收值之比。以U/A_{280}表示。

理化性质 尿激酶是存在于哺乳动物血液和尿中的蛋白水解酶。尿激酶没有酶原。

稳定性 尿激酶是一相当稳定的酶。在0℃其冻干粉保存数年或灭菌溶液(1mg/mL或更浓)保存数月都不损失活力。可是，如遇较稀溶液透析或放置数小时时，最好加0.1% EDTA，氯化钠浓度低于0.03mol/L将降低其稳定性，而在非常低的盐浓度下沉淀产生并有活力损失。在溶血纤的测定中，测定活力水平的稀释时，建议加入蛋白质（例如人血清白蛋白第Ⅴ部分或明胶）以防止表面变性。

抑制剂 人血浆（和血清）含抑制剂，在某些病理条件下，达到正常人水平的10～20倍。此抑制剂被热（56℃，30分钟)所破坏，并存在Cohn's Ⅳ-Ⅰ部分。合成的ε-氨基己酸抑制尿激酶作用于血纤维蛋白溶酶原以及合成酯底物。

理化参数

	S_1	S_2
沉降常数（$s^\circ_{20,w}$）		
pH2.6	—	3.18S
pH4.5	2.75S	3.33S
pH6.5	2.66S	3.27S
pH8.5	2.71S	—
异质性常数		
pH4.5	0.28×10^{-13}	—
pH6.5	0.35	—
pH8.5	0.32	—
扩散常数（$D^\circ_{20,w}$）,		
pH6.5	7.41×10^{-7}	—
微分比容，v	0.724	0.728
摩擦比，f/f_0	1.35	—
电泳速率$\times10^5$cm^2/V·s (pH4.8, 乙酸缓冲剂，U0.1)	+3.5	+2.2
$A^{1\%}_{1cm}$ 280nm, pH6.5	13.2	13.6

制备方法[1] 新鲜收集的健康男青年小便快速运至生产场地，速冷至10℃以下，直至收集到足够的尿进行发泡（每批900～1400L）。搅动20分钟后，泡层在液面上收集10分钟。尿从容器

底部通过0.051m管接上四氟乙烯阀和观察玻璃快速流掉。当泡沫水平到达玻璃时，迅速关掉阀。泡沫静止25分钟进一步破灭，尿层再放掉。泡沫加入最小量辛醇使液化。泡沫浓缩物结冻并保存于-20℃。

1．粗尿激酶的分离　所有操作在4℃进行。新鲜或新解冻的泡沫浓缩物加硫酸铵至饱和度0.65（2℃）。沉淀离心或过滤，溶于3%氯化钠（1/200原来尿量），并对12倍（换两次）含0.1%EDTA的0.1mol/L磷酸缓冲液（pH6.5）透析过夜。离心（30000×g，30分钟）。溶液为粗尿激酶，比活约250U/A_{280}。

2．IRC-50树脂纯化　树脂预先用含0.1mol/L氯化钠和0.1%巴比妥二钠的0.1mol/L磷酸缓冲液平衡，倒入柱内（100cm高，横截面约1cm²/600000CTA单位的粗尿激酶）。粗酶上柱，用蒸馏水洗柱直至流出液280nm的光吸收率约为0.06。尿激酶用含0.1%EDTA的3%氯化钠洗脱。收集适当的部分。主峰含50～60%原来粗酶活力，比活约10,000U/A_{280}。合并主要部分，直接冻干或先超滤浓缩后冻干。

3．交联葡聚糖凝胶G-100柱凝胶过滤　柱高100～110cm，横截面约20cm²/g。2.中间品（上柱前对pH6.5缓冲液透析平衡）酶液小心地上柱，过滤籍引力进行，缓冲液位差约40cm在Sephadex顶部。生物活力在第3(C-1)和第4(C-2)峰。活力总产率80～85%。C-2分子量较小，似是酶降解的物质，因此通常不考虑它。合并C_1峰中央区域，超滤浓缩。C_1占原来生物活性至少70%。比活为30000～35000U/A_{280}。

4．交联葡聚糖凝胶G-100重新分级分离　上述C_1部分4或5批合并，用同3.一样的柱，或单做一批的C_1，则用横截面为上述3.的柱的1/5。得280nm吸收的对称主峰及一小峰。主峰含上柱光密度的90%或更多，其流出体积等于柱总体积的50%±1%。主峰物超滤浓缩，对含0.1% EDTA的0.05mol/L氯化钠透析，并冷冻干燥。比活50000～75000CTA U/A_{280}。

参考文献

〔1〕 While W. F., et al.; *Biochemistry*., 5, 2160(1966).

黄嘌呤氧化酶（生奶油）　Ⅱ-2(1)-0081

Xanthine oxidase (buttermilk)

别名　Xanthine: oxygen oxidoreductase

EC　1.2.3.2

分子量　约283000

酶反应　次黄嘌呤 + $2O_2 \rightleftharpoons$ 尿酸 + $2H_2O_2$

单位定义　1单位的酶将产生1.0(△log高铁细胞色素) /△t（分钟）。

理化性质　此酶能氧化次黄嘌呤、黄嘌呤和醛。

抑制剂　由于它含有金属，所以缓慢地并不可逆地被氰化物所钝化。此酶含FAD。透析造成的钝化能被巯基化合物所恢复。此酶被下列缓冲剂和盐所抑制——磷酸盐，咪唑，氯化钠和氯化钾。

制备方法[1]

1．在机械混合器内搅动（2.27L）新鲜生奶油（40～42%乳脂）直至黄油以细硬颗粒分离出来，用几层纱布过滤。

2．胰蛋白酶消化和加热　加0.2mol/L磷酸氢二钠（470mL）至过滤的生奶油(780mL)

中，使pH达7.5，并加2.9g溶于50mL水中的胰蛋白酶（1:300）。在37℃保温3.5小时。保温混合液使冷至20℃,并测试1部分以求得需要产生将近清的上清液所需最低量的0.5mol/L氯化钙。一般用0.12～0.15容积已足够，若多加将大大地减少酶的产量。加190mL0.5mol/L氯化钙至消化混合液（1280mL）中，在20℃保温15分钟，离心。在3分钟内温热稍许不透明的上清液至60℃，维持此温度5分钟，尽快冷却。

3．硫酸铵分级 加热处理过的部分（1200mL）加以271g硫酸铵，过滤过夜。滤液加入72g硫酸铵，离心收集沉淀，并溶于水中。

4．氢氧化铝凝胶吸附和洗脱 加硫酸铵分级部分（273mL）至153mg氢氧化铝凝胶C_γ（预先已离心）。搅拌以悬浮凝胶，离心，弃去上清液。用3×12mL0.5mol/L磷酸缓冲液（pH7.5）洗脱凝胶。

5．磷酸钙凝胶吸附和洗脱 合并洗脱物，并加54mL在0℃饱和的硫酸铵溶液。收集沉淀，溶于60mL水中。加99mg磷酸钙凝胶（老化约3个月，用前离心）。充分悬浮凝胶，离心，弃去上清液。凝胶用2×12mL 0.1mol/L磷酸缓冲液（pH6.2）洗涤，用2×12mL 0.5mol/L磷酸缓冲液（pH6.2）洗脱。合并洗脱物，加36mL饱和硫酸铵溶液，离心收集沉淀，溶于30mL水中。

加热部分在2℃可保存数周，活力损失很小。它在结冻状况可长期保存。最后溶液在结冻保存于-16℃下缓慢地丧失活力。

黄嘌呤氧化酶纯化的总结

部　分	织，mL	U/mL	总活力，U	蛋白mg/mL	比活，U/mg	回收率，%
生奶油	780	1.67	1300	49.0	0.034	—
加热部分	1200	0.67	800	1.73	0.39	62
硫酸铵部分	267	2.33	624	2.58	0.90	48
$Al(OH)_3$洗脱物	36	11.1	400	2.85	3.89	31
磷酸钙洗脱物	41	5.40	221	0.98	5.51	17

参　考　文　献

〔1〕 Colowick S. P. and Kaplan N. O.: "Methods in Enzymology", Vol II, Academic Press, New York and London, 482, 1955.

5′-腺苷三磷酸酶　　Ⅱ-2(1)-0082

Adenosine-5′-triphosphatase

别名 腺三磷酶 ATPase; ATP phosphohydrolase;

EC 3.6.1.3

酶反应 ATP + H_2O ⟶ ADP + P_i

腺苷三磷酸　　腺苷二磷酸　　无机磷

单位定义 活力的表示为，在指定条件下5分钟水解底物量（μmol）；比活则为μmol底物水解/5min/mg酶氮。为了比较的目的，Q_P(μlP/mg蛋白/h) 也列在制备总结表上。

理化性质 此酶专一除去ATP的末端磷酸。最适pH约在6.8～7.0；在pH7.6和5.6,酶的活力约为最适pH时的50%。

激活剂 有Mg^{++}和Mn^{++}；抑制剂有Ca^{++}，F^-和对氯汞苯甲酸。

制备方法[1]

1. 粗抽提液 冷却兔肌（后腿和背），通过绞肉机，悬浮于5倍冷抽提液（0.1mol氯化钾，0.04mol/L碳酸氢钠，0.01mol/L碳酸钠，0.001mol/L氰化钾）中，在捣碎机中捣1分钟。悬浮液放置20分钟，离心（3000×g，15分钟）。这操作和以后步骤需在约5℃进行。残留物重新悬浮于5倍的抽提液中同前处理。残留物再次抽提。

2. 除去肌动球朊 合并抽提液，用等体积0.001mol/L氰化钾或水稀释之。放置约半小时后，离心除去沉淀的肌动球朊。

3. 硫酸铵沉淀 上清液加入硫酸铵（27g/100mL上清液）以沉淀酶。放置1小时后，离心，沉淀用35%饱和硫酸铵洗涤1次。沉淀溶于1:1稀释的原来抽提用液，离心（10,000g，10分钟）使清，重复硫酸铵沉淀。沉淀溶于0.2mol/L氯化钾0.02mol/L碳酸氢钠，0.001mol/L氰化钾溶液中，容积约等于原来肌肉的重量数。

4. 超离心分离 离心（10000×g，15分钟）使清后，腺三磷酶在70000×g，离心1小时。沉淀悬浮于0.2mol/L氯化钾，容积约$\frac{1}{5}$上次的容积。为了更好地悬浮，可用匀浆器。溶液离心（10000×g，15分钟），弃去沉淀。

制备步骤的总结

部分	总活力,μMPi/5min/100肌肉	比活,μMPi/5min/mgN	Q_p
1.粗抽提液	4900	2.76	124
2.除净肌动球朊抽提液	2230	2.26	101
3. 0.0～0.35硫酸铵分级	4600	28.8	1290
4.超离心分级	4040	93.2	4175
5.超离心(3天)的最高活力	7570	174	7800

参考文献

〔1〕 Colowick S. P. and, Kaplan N. O.;, "Methods in Enzywology", Voi, Ⅱ, Acadewic Press, New York, 588, 1955.

第二节 酶的发色底物

N-乙酰-L-苯丙氨酸对硝基苯胺 Ⅱ-2(2)-0001

N-Acetyl-L-phenylalanine-p-nitroanilide

别名 Ac-Phe-pNA

结构式

$C_6H_5CH_2CHCONHC_6H_4NO_2$
　　　　　|
　　　　$NHCOCH_3$

分子式 $C_{17}H_{17}N_3O_4$ **分子量** 327.33

理化参数 熔点243～245℃。$[\alpha]_D^{25}+77.6°$（C=0.5，丙酮）。

制备方法[1]

1. 乙酰-L-苯丙酰胺[2] 4.7g乙酰-L-苯丙氨酸在甲醇中通氯化氢酯化，得4g乙酰-L-

苯丙氨酸甲酯，熔点89～90℃。用乙醚重结晶3次，得大棱形结晶；$[\alpha]_D^{25}+19.5°$($C=2$，甲醇)。

上述酯氨解得细针状结晶，熔点176～177℃。经水中两次重结晶，$[\alpha]_D^{25}+27°$($C=1$，甲醇)。

2．乙酰-L-苯丙氨酸对硝基苯胺[3]　等摩尔混合物的乙酰-L-苯丙酰胺和对硝基苯胺在油浴中加热至155℃，所得油状物冷却，从乙醇/水中分部结晶（利用乙酰-L-苯丙氨酸苯胺盐和乙酰-DL-苯丙氨酸苯胺盐在溶解度上的大差异）。第一部分是纯DL-型化合物，最后部分是有光学活性的L-型化合物。熔点DL-270～272℃；L-243～245℃。$[\alpha]_D^{25}+77.6°$($C=0.5$，丙酮)。

$C_{17}H_{17}N_3O_4$(327.33)计算含量$C_{62.38}H_{5.20}N_{12.84}$
实测62.29　5.32　12.50

用途　测定胰凝乳蛋白酶用的底物。

贮存　-20℃，避光，干燥。

参 考 文 献

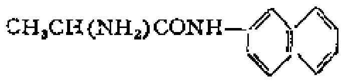
〔1〕 Petkov D., Christova E. and Stoineva I.:*Biochim. Biophys. Acta.*, 527, 131(1978).
〔2〕 Huang H. T., Forster R. J. and Niemann C.:*J. Am. Chem. Soc*, 74, 105(1952).
〔3〕 Galat A. and Elion G.:*J. Am. Chem. Soc.*, 65, 1566(1943).

L-丙氨酸-β-萘酰胺　　Ⅱ-2(2)-0002

L-Alanine-β-naphthylamide

别名　L-丙氨酸-2-萘酰胺　L-Alanine-2-naphthylamide胺

结构式



分子式　$C_{13}H_{14}N_2O$　　**分子量**　214.26

理化参数　熔点99～100℃。

制备方法[1]　3g氯丙酰萘胺溶于100mL甲醇中，加入等体的浓氢氧化铵。混合物置压力瓶中在50～60℃放置24～36小时，过滤。滤液在同一温度下真空蒸发。加入30mL乙醇和足够量的水使成100mL。用稀乙酸酸化并使煮沸，得一近清溶液。搅拌加入1g活性炭，趁热过滤。加入足够量的稀氢氧化钠至滤液中，使之对酚酞呈微碱性，混合物置冷藏室。冷却后，闪亮的针状结晶沉淀。过滤，沉淀用冰冷，以30%的乙醇洗涤，并在50℃干燥。产率约25%。

用途　作为L-丙氨酸氨肽酶的底物。

贮存　-20℃，避光，干燥保存。

参 考 文 献

〔1〕 Gomori G.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 87, 559(1954).

偶 氮 白 蛋 白　　Ⅱ-2(2)-0003

Azoalbumin

别名　Sulfanilic acid-azoalbumin

理化参数 $A_{440nm}^{1\%}$（在0.1mol/L氢氧化钠中）32～38。

制备方法[1] 溶液A：50g牛血浆白蛋白第Ⅴ部分，溶于1L水中。在搅拌下加入碳酸氢钠溶液（10g/100mL水）。溶液B：0.025mol对氨基苯磺酸溶于200mL含0.025mol氢氧化钠（5.0mL 5.0mol/L）的水，加入0.025mol亚硝酸钠。溶液搅拌并加入0.05mol（10.0mL 5.0mol/L）盐酸。溶液搅拌2分钟并加0.05mol氢氧化钠（10.0mL 5.0mol/L）到搅拌的溶液中。溶液搅5秒钟并立即在剧烈搅拌下加到溶液A中。

反应物搅拌5分钟并对冷自来水透析过夜。透析液冷冻干燥。

偶氮白蛋白是一红～橙色化合物。在440nm～450nm处有一吸收高峰。在pH低于3和高于5时，偶氮白蛋白是可溶的。

偶氮白蛋白的颜色与浓度的关系遵循比尔定律。

用途 作为蛋白水解酶（胰蛋白酶和胃蛋白酶）的一种可溶性发色底物。

贮存 0～+5℃，避光，干燥贮存。

参 考 文 献

〔1〕 Tomarelli R. M., Charney J. and Harding M. L.: *J. Laboratory and Clinical Medicine.*, 34, 428～433(1949).

偶氮酪蛋白钠盐 Ⅱ-2(2)-0004

Azocasein Sodium salt

别名 Sulfanilic acid-azocasein, sodium salt

理化性质 易溶于水，产生深颜色。

理化参数 $A_{440nm}^{1\%\times 1cm}$（在0.1mol/L氢氧化钠中）约为40。低空白$A_{360nm}^{1cm}$最高0.1（在以2倍三氯乙酸沉淀的上清液）。

制备方法[1] 10g乙酸钠溶于1.0L蒸馏水中，在剧烈搅拌下加入50g磨碎的Hammersten酪蛋白。搅拌必须确保分散完全。用pH计测定搅拌的浆状物，滴加1mol/L氢氧化钠使达pH7.0。当pH不再下降时（2小时），大部分的酸蛋白已成溶液，可能会稍有浑浊出现。

酪蛋白溶液保持搅拌，进行制备的下一步。

溶解5g对氨基苯磺酰胺在200mL蒸馏水中。在摇动下，加入6.0mL 5mol/L氢氧化钠，再加2.2g亚硝酸钠。开始用停表记录，并立即加入18ml 5mol/L盐酸。准确地摇动2分钟，并加入18ml 5mol/L氢氧化钠。

把偶氮溶液立即加入至搅拌中的酪蛋白溶液中，用1mol/L盐酸或氢氧化钠调节pH至8.5并搅拌2小时。加1500mL蒸馏水到深红色溶液中，并用粗孔砂芯漏斗上铺硅藻土过滤。在搅拌下缓慢加入1mol/L盐酸以调节滤液的pH至4.5，得一相对密度大的黄色凝乳状沉淀。

用粗孔砂芯漏斗收集沉淀，浆状物用2×1000mL水，2×1000mL丙酮，最后用2×1000mL水洗涤。这步所得湿固体可保存于冰箱中过夜。

在剧烈搅拌下悬浮偶氮酮蛋白于2.0L蒸馏水中。用1mol/L氢氧化钠调节pH至7.0。因为偶氮酪蛋白逐渐溶解，pH逐渐下降，因此，隔一段时间要重新调节pH。在此操作的早期可把pH调至稍为过头些（最高7.3）以加速溶解。约5小时可使之完成。如果需要，通过硅藻土过滤使溶液澄清。约得2300mL的2%溶液。可把它分为若干份，并保持结冻待用。

用途 蛋白水解酶的底物。

贮存 －20℃。

参 考 文 献

〔1〕 Hazen G. G., Hause J. A., and Hubicki J. A.; *Annals N. Y. Acad. Sciences.*, 130, 761(1965).

N^{α}-苯甲酰-DL-精氨酸-β-萘酰胺盐酸盐　　Ⅱ-2(2)-0005

N^{α}-Benzoyl-DL-arginine-β-naphthylamide hydrochloride

别名 BANA; α-*N*-Benzoyl-DL-arginine 2-naphthylamide hydrochloride

结构式



分子式 $C_{23}H_{25}N_5O_2 \cdot HCl$　　**分子量** 439.94

理化参数 熔点195～197℃和193～194℃。$[\alpha]_D^{20}$ 0±1°(*C*＝1，乙醇)。

制备方法

一、混合酸酐法　N^{α}-苯甲酰-N^{ω}-硝基-L-精氨酸与-β萘胺偶联，产率60%。中间产物的熔点220～223℃。中间产物的硝基可通过用钯在稀盐酸中催化氢化除去，得光学上无活性的N^{α}-苯甲酰-DL-精氨酸-β-萘酰胺盐酸盐，熔点195～197℃。

二、*N*,*N'*-二环己基碳二亚胺（DCCI）法[1]

1. N^{α}-苯甲酰-L-精氨酸盐酸盐　39.6g 苯甲酰-L-精氨酸溶于 100mL 丙酮加14.2mL 10mol/L盐酸，真空蒸发至干，五氧化二磷真空干燥。熔点 298℃（分解）；得量44g（产率g98%）。$[\alpha]_D^{18}$ －8.0°(*C*＝2，水)。

2. N^{α}-苯甲酰-DL-精氨酸-β-萘酰胺盐酸盐　31.5gN^{α}-苯甲酰-L-精氨酸盐酸盐和14.3 β-萘胺溶于300mL二甲基甲酰胺中，加入20.9g二环己基碳二亚胺后放置室温6.5小时。过滤二环己基尿素后，所得滤液真空蒸发，残留物经过用乙醚消化后溶于乙醇中。加入乙酸乙酯/乙醚后，化合物呈油状。经分离后，溶于热水中。热的水溶液盖上一层乙酸乙酯并振摇。两相分离以后，一种具有接触表面的结晶分离面出。过滤，干燥。从甲醇-水或甲醇-乙酸乙酯中重结晶，熔点193～194℃。得量13.8g，产率32%。

用途　作为组织蛋白酶B₁和胰蛋白酶的底物。

贮存　0～4℃，避光，干燥贮存。

参 考 文 献

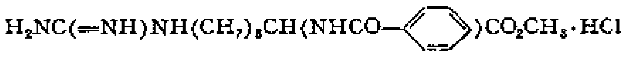
〔1〕 Riedel A. and Wünsch E.; *Z. physiol. Chem.*, 316, 61(1959).

N^{α}-苯甲酰-L-精氨酸甲酯盐酸盐　　Ⅱ-2(2)-0006

N^{α}-Benzoyl-L-arginine methyl ester hydrochloride

别名 BAME

结构式



分子式 $C_{14}H_{20}N_4O_3 \cdot HCl$　　**分子量** 328.80

制备方法[1,2]

1. N^{α}-苯甲酰-L-精氨酸　加12.8mL苯甲酰氯和10%碳酸钠（17.2g＋170mL水）到21.2g L-精氨酸单盐酸盐的水溶液（120mL）中，加入的速度要使反应混合物对酚酞刚好保持碱性。反应混合物剧烈搅拌，温度维持约20℃。加入试剂需2.5小时，加完后再搅拌1.5小时，酸化至对刚果红呈酸性，少量的二苯甲酰-L-精氨酸沉淀离心或过滤除法。滤液用乙醚抽提，用氨中和至约pH8。减压浓缩得结晶。从热水中重结晶。得20～24g N^{α}-苯甲酰-L-精氨酸。

2. N^{α}-苯甲酰-L-精氨酸甲酯盐酸盐　7.6g上述结晶在350mL绝对甲醇中酯化，要在冷却下进行。反应物置冰箱过夜，溶液在30℃浓缩，残留物溶于小量甲醇中，糖浆状酯加干乙醚使沉淀。可重新酯化一次。

3. 纯化　虽然未能得到结晶，用下列方法可使之变成一稳定的、高度潮解的玻璃状物质。约8g苯甲酯精氨酸甲酯的甲醇溶液真空蒸发，除去溶剂直至形成固体泡沫。泡沫溶于30mL水中，用5mol/L氢氧化钠把pH从0.75调节至8.75。所得少量沉淀滤去，溶液用5mol/L盐酸重新酸化至pH3。真空除去水，加入两倍无水甲醇，真空蒸馏以除去最后痕量的水。所得油状物溶于60mL绝对甲醇并滤去氯化钠。溶剂再真空蒸馏除去，剩下的油状物加热至100℃，10分钟。产物为一易碎的、白色泡沫状玻璃体。置真空干燥器内干燥一些时日，此固体可以称重。

用途　用作胰蛋白酶和激肽释放酶的底物。

贮存　－20℃。

参 考 文 献

〔1〕 Schwert G. W., Neurath H., Kaufman S. and Snoke J. E.: *J. Biol. Chem.*, 172, 221(1948).

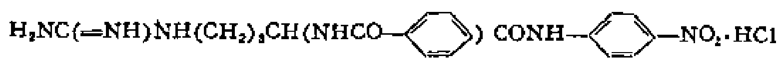
〔2〕 Bergmann M., Fruton J., and Pollok H.: *J. Biol. Chem.*, 127, 643(1939).

N^{α}-苯甲酰-L-精氨酸对硝基苯胺盐酸盐　　Ⅱ-2(2)-0007

N^{α}-Benzoyl-L-arginine-*p*-nitroanilide hydrochloride

别名　BAPNA; BAPA

结构式



分子式　$C_{19}H_{22}N_6O_4 \cdot HCl$　　**分子量**　434.89

理化性质　溶于水和乙醇。

理化参数　熔点225℃。$[\alpha]_D^{25}+14.2°$（$C=1.0$，水）。光吸收 $\lambda_{最大}$312nm。

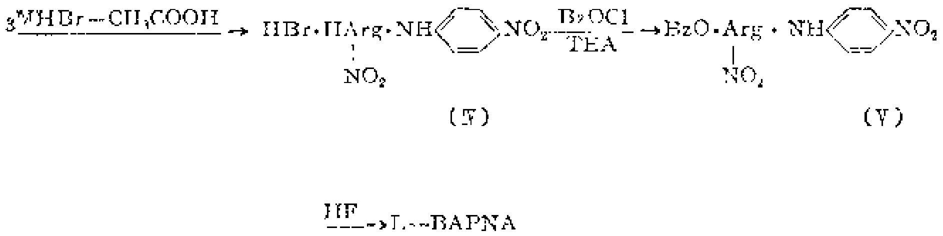
制备方法[1]

N^{ω}-硝基-L-精氨酸　按Hayakawa et al[2]制得。

N^{α}-苄氧羰酰-N^{ω}-硝基-L-精氨酸　按Hofmann et al[3]制得。



（Ⅱ）　　（Ⅰ）　　（Ⅲ）



(Ⅳ) (Ⅴ) (Ⅵ)

1. 异氰酸对硝基苯酯（Ⅰ） 氯化氢通至对硝基苯胺（20g，145mmol）在干二氧六环（200mL）中，直至在室温饱和，在50℃通光气至反应混合液中，1小时直至得一清液。在室温通氮气30分钟以赶去过量的光气，溶液在40℃以下蒸发至干，残留物用干四氯化碳（120mL）回流2.5小时。室温过滤除去不溶物，滤液浓缩至干，结晶的（Ⅰ）从四氯化碳中重结晶。产量21.8g，产率92.4%。熔点56℃。

2. N^{α}-苄氧羰酰-N^{ω}-硝基-L-精氨酸对硝基苯胺（Ⅲ）在20℃依次搅拌加入三乙胺(7.92 mL，56.7 mmol）和〔Ⅰ〕（18.7g，114 mmol）进入N^{α}-苄氧羰酰-N^{ω}-硝基-L-精氨酸（Ⅱ）（20.0g，56.7mmol）在干六甲基磷酰胺（HMPA）（120mL）中。混合物在室温搅拌20小时，用1000mL 2%碳酸氢钠以分离产物，然后冷却。所得沉淀过滤，并依次用2%碳酸氢钠、水、0.5ml/L盐酸和水洗涤。产物用300mL和100mL热二氧六环抽提2次，抽提物浓缩至干。残留物用乙醚洗几次并从正丁醇（300mL）中重结晶。结晶用乙醚洗涤并干燥。产量20.4g，产率76.2%。熔点178℃。$[\alpha]_D^{25}$+52.8°（C=1.05，HMPA）

3. N^{ω}-硝基-L-精氨酸对硝基苯胺氢溴酸盐（Ⅳ）（Ⅲ）(20.0g，42.3mmol)在20～23℃用3mol/L氢溴酸在冰乙酸（200mL）中搅拌7小时。加入干乙醚（1000mL）使产物沉淀；混合物在0℃放置1小时后，倾泌以收集沉淀并用干乙醚洗涤。沉淀很容易地从水中结晶，冷却，过滤，用少量冷水洗涤并干燥。母液回收可多得产物。合并产物用二氧六环（40mL）回流几分钟以除去杂质；冷却，过滤并干燥。产量15.8g，产率88.8%。熔点174～175℃。

4. N^{α}-苯甲酰-N^{ω}-硝基-L-精氨酸对硝基苯胺（Ⅴ）（Ⅳ）(19.5g，46.4mmol）溶于四氢呋喃与水（9:1体积比，195mL）混合物中，冷却至－5～－7℃。加入三乙胺（13.5mL，97.5mmol）至溶液中后，用5分钟逐滴地搅拌加入苯甲酰氯（6.05mL，51.1mmol）。放置1小时后，置0℃1小时，再放室温1小时；溶液在室温蒸发至干。残留物用水洗涤，干燥，加乙醇回流。从二甲基甲酰胺和水中重结晶。产量15.4g，产率75.2%。熔点246℃。$[\alpha]_D^{25}$+60.7°（C=1.12，HMPA）。

5. N^{α}-苯甲酰-L-精氨酸对硝基苯胺盐酸盐（Ⅵ）（Ⅴ）(13g，29.4mmol）置入含苯甲醚（13mL，120mmol）的氟化氢反应器中(在反应器中，干冰冷却下收集用三氟化钴干燥的40mL氟化氢）。混合物在0℃搅拌反应40分钟。过量的氟化氢减压除去，残留物维持真空2小时。残留物用乙醚洗涤，然后用3mol/L盐酸连续处理把氟化氢转化成盐酸盐。用乙醇（100mL）和乙醚（300mL）结晶，放在0℃1小时。过滤收集结晶并干燥。产量11.0g。粗产物用热乙醇（200mL，100mL，50mL和50mL）抽提4次，合并抽提物浓缩至干并从绝对乙醇中重结晶。产量5.6g，产率44.1%。

用途 作为胰蛋白酶、木瓜蛋白酶、血纤维蛋白溶酶、组织蛋白酶B和菠萝蛋白酶的底物。

贮存 －20℃，避光，干燥贮存。

参 考 文 献

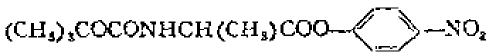
〔1〕 Nishi N., Tokuras. and Noguchi J.: *Bull. Chem. Soc. Japan.*, 43, 2900(1970).
〔2〕 Havakawa, T., Fujiwara, A. and Noguchi, J.: *Bull. Chem. Soc. Japan.*, 40, 1205(1967).
〔3〕 Hofman, K., Peckham, W. D. and Reiner, A.: *J. Am. Chem. Soc.*, 78, 238(1956).

N-叔丁氧羰酰-L-丙氨酸对硝基苯酯　　Ⅱ-2(2)-0008

N-*t*-Butyloxycarbonyl-L-alanine-*p*-nitrophenyl ester

别名　Boc-Ala-ONp；*p*-Nitrophenyl *N*-tert-butyloxycarbonyl-L-alaninate；NBA

结构式



分子式　$C_{14}H_{18}NO_6$　　**分子量**　310.31

理化参数　熔点71～73℃。$[\alpha]_D^{22}-57.8°$（甲醇）

制备方法[1]　BOC-L-丙氨酸的对硝基苯酯制备在0℃、干燥乙酸乙酯中进行。采用5%摩尔过量的对硝基苯酚和*N*,*N*′-二环己基碳二亚胺及BOC-L-丙氨酸反应。混合物在4℃搅拌过夜，沉淀的*N*,*N*′-二环己基脲过滤除去，旋转蒸发除去溶剂后，加入石油醚（30～60℃）使产物沉淀。

提纯方法　重结晶在三氯甲烷稀溶液中加入轻石油醚使沉淀，在-20℃进行。

用途　作为测定弹性蛋白酶的底物，测定其酯酶的活力，方法灵敏，快速，甚至少至1μg酶/mL也能满意地被测出。也可用于在高离子强度时，胰凝乳蛋白酶原和胰蛋白酶原水解速率的测定。

贮存　-20℃。

参 考 文 献

〔1〕 Lonsdale-Eccles J. D., Neurath H. and Walsh K. A.: *Biochemistry.*, 17, 2805(1978).

N^α-叔丁氧羰酰-L-天冬酰胺对硝基苯酯　　Ⅱ-2(2)-0009

N^α-*t*-Butyloxycarbonyl-L-asparagine-*p*-nitrophenyl ester

别名　Boc-Asn-ONp

结构式



分子式　$C_{15}H_{19}N_3O_7$　　**分子量**　353.32

理化性质　在乙醚中重结晶。

理化参数　熔点157～158℃。$[\alpha]_D-45.30°$（$C=1$，二甲基甲酰胺）。

制备方法[1]

1. N^α-*t*-叔丁氧羰酰-L-天冬酰胺　9g L-天冬酰胺和4.8g氧化镁和12g叔丁氧羰酰迭氮在180mL水/二氧六环（1:1体积比）中振摇4天。抽滤，用水洗涤，在真空下除去，二氧六环，用乙酸乙酯抽提，溶液在0℃用固体柠檬酸酸化。得10g(73%)，熔点171～172℃。从乙醇/水

中重结晶，熔点181～182℃。[α]$^{25}_{D}$ -7.8°(C=1，二甲基甲酰胺)。

$C_9H_{16}N_2O_5$(232.2)计算含量C46.55　H6.94　N12.06

实测47.05　6.88　11.88

2．N^{α}-叔丁氧羰酰-L-天冬酰胺对硝基苯酯　4.6g叔丁氧羰酰-L-天冬酰胺在50mL四氢呋喃加15mL二甲基甲酰胺和3.1g对硝基苯酚加4.5g二环己基碳二亚胺，在0℃放置6小时。抽滤除去尿素，滤液真空蒸发，残留物溶于乙酸乙酯中，并依次用稀碳酸氢钠溶液，10%柠檬酸和水振摇。乙酸乙酯相蒸发，残留物用乙醇重结晶。得3.65g(52%)长针状晶体。熔点148～149℃。[α]$^{25}_{D}$ -40°。经重结晶后熔点合格。

$C_{15}H_{19}N_3O_7$(353.32)计算含量C50.99　H5.42　N11.89

实测　51.24　5.50　11.80

贮存　-20℃，避光，干燥贮存。

参　考　文　献

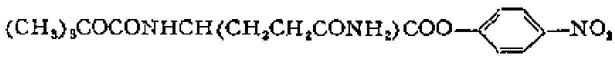
〔1〕 Schröder E. and Klieger E.: *Liebigs Ann. Chem.*, 673, 208(1964).

N^{α}-叔丁氧羰酰-L-谷氨酰胺对硝基苯酯　Ⅱ-2(2)-0010

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-L-glutamine-*p*-nitrophenyl ester

别名　N^{α}-*t*-Boc-L-Gln-ONp

结构式



分子式　$C_{16}H_{21}N_3O_7$　　**分子量**　367.37

理化参数　熔点154～155℃。[α]$_D$ -35°(C=1，二甲基甲酰胺)。

制备方法[1]

1．N^{α}-叔丁氧羰酰-L-谷氨酰胺　熔点116～119℃。[α]$_D$ -16°（在二甲基甲酰胺中)。Hofmann等[2]报导，熔点114～118℃，[α]$_D$ -3°（乙醇)。

2．N^{α}-叔丁氧羰酰-L-谷氨酰胺对硝基苯酯　N^{α}-叔丁氧羰酰-L-谷氨酰胺溶于二甲基甲酰胺中，并和1.1mol的对硝基苯酚溶于四氢呋喃的溶液混合，溶液温度冷至0℃并加入1.1mol的N,N'-二环己基碳二亚胺。反应混合物放置在室温过夜。粗反应产物分离，从96%乙醇中重结晶数次。产率63%。

$C_{16}H_{21}N_3O_7$(367.37)计算含量C52.33　H5.76　N11.44

实测　52.2　5.8　11.6

贮存　-20℃。

参　考　文　献

〔1〕 Beyerman H. C, Boers-Boonekamp, C. A. M. and Van den Brink-Zimmermannova, H. M.: *Recueil Trav. Chim. Pays-Bas.*, 87, 257(1968).

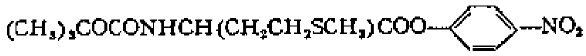
〔2〕 Hofmann, K., Haas, W., Smithers, M. I., Wells, R. D., Wolman, Y., Yanaihara, N. and Zanetti, G.: *J. Am. Chem. Soc.*, 87, 620(1965).

N-叔丁氧羰酰-L-甲硫氨酰对硝基苯酯　Ⅱ-2(2)-0011

N-*t*-Butyloxycarbonyl-L-methionine-*p*-nitrophenyl ester

别名　Boc-Met-ONp

结构式



分子式 $C_{16}H_{22}N_2O_6S$ **分子量** 370.43

理化性质 在乙醇中重结晶

理化参数 熔点 96～97℃。$[\alpha]_D^{25}$ −48.3±0.9°(C=1.02，甲醇)。

制备方法

1．N-叔丁氧羰酰-L-甲硫氨酸二环已铵盐 在甲硫氨酸（3.0g，0.02mol）和碳酸氢钠（3.8g）在水-二氧六环（1∶1体积比，60mL）的混合液中，加迭氨基甲酸丁酯(4.3g，0.03 mol)，混合液在45℃搅拌48小时。反应混合液照通常方式进行。所得酰化甲硫氨酸(油，4.3 g）溶于乙醚，加入二环已胺（3.1g，0.017mol)。结晶过滤收集，用乙醚洗涤，真空干燥。产量6.7g (78%)。从乙酸乙酸中重结晶，回收率92%。熔点141℃。$[\alpha]_D^{25}$ −18.2±0.9°(C=0.648，甲醇)。

$C_{10}H_{19}NO_4S.C_{12}H_{23}N$计算含量C61.36 H9.83 N6.51
实测61.56 9.99 6.68

2．N-叔丁氧羰酰-L-甲硫氨酸对硝基苯酯 上述二环已铵盐（10.8g，0.025mol）和 Dowex 50W×8(H^+型，湿的27mL）在60%乙醇中振摇30分钟。过滤除去树脂后，滤液真空蒸发。残留物溶于乙酸，溶液用硫酸钠干燥，干燥溶液真空蒸发，定量地得到游离酸。所得油状酸和对硝基苯酚（3.5g，0.025mol）溶于乙酸乙酯，冷却至0℃时，加入N,N'-二环已基碳二亚胺（5.2g，0.025mol）的乙酸乙酯溶液。混合液置4℃过夜。过滤除去N,N'-二环已基脲，滤液真空蒸发至干，残留物从乙醇中结晶。从乙醇中重结晶得活化酯7.8g产率84%。

$C_{16}H_{22}N_2O_6S$(370.43)计算含量C51.88 H5.99 N7.56
实测 52.05 5.97 7.68

贮存 −20℃。

参 考 文 献

〔1〕Inouye K., Watanabe K., Namba K. and otsuka H.: *Bull. Chem. Soc. Japan.*, 43,3873(1970).

N^α-叔丁氧羰酰-L-苯丙氨胺对硝基苯酯 Ⅱ-2(2)-0012

N^α-t-Butyloxycarbonyl-L-phenylalanine-p-nitrophenyl ester

别名 Boc-Phe-ONp

结构式



分子式 $C_{20}H_{22}N_2O_6$ **分子量** 386.41

理化性质 结晶。

理化参数 熔点132℃。$[\alpha]_D^{25}$ −21.0±1.0°(C=2，二甲基甲酰胺)；−17.5±1°(C=2，甲醇)；−17.5±1°(C=2，95%乙酸)。

制备方法[1] N-叔丁氧羰酰-L-苯丙氨数[2](20mmol）和对硝基苯酚（3.35g，24mmol)溶于50mL乙酸乙酯中，在0℃冷却，加入4.25g(20.5mmol)N,N'-二环已基碳二亚胺，在0℃维持

0.5小时，然后在室温4小时，滤去N,N'-二环己基脲，真空蒸发除去溶剂，从温热80%乙醇中重结晶2次，得N-叔丁氧羰酰-L-苯丙氨酸对硝基苯酯，产率82%。

$C_{20}H_{22}N_2O_6$(386.41)计算含量C62.1H5.7N7.2O24.9
实测 62.1 6.0 7.4 24.9

贮存 －20℃。

参 考 文 献

〔1〕 Sandrin, Edand Boissonnas, R. A.: *Helv. Chim. Acta.*, 46, 1637(1963).
〔2〕 Anderson G. W. and McGregor A. C.: *J. Am. Chem. Soc.*, 79, 6180(1957).

N^{α}-叔丁氧羰酰-O-苄基-L-酪氨酸对硝基苯酯 Ⅱ-2(2)-0013

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-*O*-benzyl-L-tyrosine-*p*-nitrophenyl ester

别名 N-Boc-*O*-benzyl-L-Tyr-ONp

结构式

$(CH_3)_3COCONHCH(CH_2C_6H_4OCH_2C_6H_5)COO$  NO_2

分子式 $C_{27}H_{28}N_2O_7$ **分子量** 492.53

理化性质

理化参数 熔点140～141℃。$[\alpha]_D^{22}$－0.3±0.4°(C＝0.983，乙酸乙酯)。

制备方法[1] N-叔丁氧羰酰-O-苄基-L-酪氨酸(2.97g, 8mmol)和对硝基苯酚(1.12g, 8mmol)在乙酸乙酯溶液中，0℃，加入N,N'-二环己基碳二亚胺(1.65g, 8mmol)的乙酸乙酯溶液，混合液在4℃保持3小时。过滤除去N,N'-二环己基脲，滤液真空蒸发。所得固体残留物悬浮于热乙醇，置冰箱得结晶。过滤收集，用冷乙醇洗涤，真空干燥得到活化酯；产量3.39g产率86%。

$C_{27}H_{28}N_2O_7$ (492.53) 计算含量	C65.84	H5.73	N5.69
实测	65.93	5.73	5.67

贮存 －20℃。

参 考 文 献

〔1〕 Inouye K., Watanabe K., Namba K., and Otsuka H.: *Bull. Chem. Soc. Japan.*, 43, 3873(1970).

N-苄氧羰酰-S-苄基-L-半胱氨酸对硝基苯酯 Ⅱ-2(2)-0014

N-Carbobenzoxy-S-benzyl-L-cysteine-*p*-nitrophenyl ester

别名 N-Cbz-L-Cys(S-Bzl)ONp；S-Bzl-N-Z-Cys-ONp

结构式

$C_6H_5CH_2SCH_2CH(NHCOOCH_2C_6H_5)COO$  NO_2

分子式 $C_{24}H_{22}N_2O_6S$ **分子量** 466.51

理化性质 细针状结晶，从乙醇-水中重结晶。

理化参数 熔点91～93℃。$[\alpha]_D^{20}$－42°(C＝2，二甲基甲酰胺)。

制备方法[1] 0.1mol N-苄氧羰酰-S-苄基-L-半胱氨酸或其他保护氨基酸和16.7g(0.12mol)对硝基苯酚溶于300mL乙酸乙酯中。溶液搅拌并在冰水浴中冷却，通过漏斗加入20.6g(0.1mol)N,N'-二环己基碳二亚胺，用50mL乙酸乙酯涮漏斗。继续搅拌30分钟，冰水浴换

成室温水浴，反应混合液继续搅拌1.5小时。加1mL乙酸使之与未作用的二环已基碳二亚胺结合，5分钟后过滤，除去N, N′-二环已基脲用3×50mL乙酸乙酯洗涤二环已基脲。合并滤液和洗液，减压蒸发除去溶剂。结晶的残留物溶于125mL含0.15mL乙酸的热乙醇中（加少量乙酸是防止其他反应发生；如有在碱性起反应的杂质，此酯会与沸乙醇参加置换反应）。溶液移入250mL三角烧瓶中，冷却后得结晶。置冰箱中1小时后过滤，结晶用80mL乙醇分4次洗涤。产物在室温、氯化钙上真空干燥。产率84%。

提纯方法 从200mL含0.2mL乙酸的沸乙醇中重结晶，回收率84%。C, H, N 元素分析符合要求。

贮存 避光，－20℃保存。

参考文献

〔1〕 Bodanszky M. and du Vigneaud V.: "Biochem. Prepn", Vol. 9. John Wiley and Sons, Inc., New York, London. 110, 1962.

N-苄氧羰酰-L-酪氨酸对硝基苯酯 Ⅱ-2(2)-0015

N-Carbobenzoxy-L-tyrosine-*p*-nitrophenyl ester

别名 Cbz-Tyr-ONp

结构式



分子式 $C_{23}H_{20}N_2O_7$ **分子量** 436.42

理化性质 类似白色结晶。溶于甲醇、丙酮、二氧六环。

理化参数 熔点158～160℃（分解）。$[\alpha]_D^{23}$－8.5±0.5°(C＝3，丙酮)。

制备方法[1] 溶解 *N*-苄氧羰酰-L-酪氨酸（1.58g，5mmol）于15mL含1.2mL三丁胺的无水二氧六环中。冷却至5℃，并在维持干燥情况下边搅拌边加入氯甲酸乙酯（0.65mL在5mL二氧六环中）。30分钟后，加入对硝基苯酚（0.70g，5mmol）搅拌1小时。真空蒸发除去溶剂，残留的油状物用三氯甲烷稀释，溶液依次序用冷的1mol/L盐酸、饱和碳酸氢钠、1mol/L盐酸、水洗涤。用无水硫酸钠干燥。同前真空蒸发除去溶剂。加甲醇至油状物中，并诱发结晶。用热三氯甲烷重结晶，得白色产物，熔点158～159℃（未校正），产量约900mg，产率55%。$[\alpha]_D$－16.3°(*C*＝1，丙酮)。

提纯方法[2] *N*-苄氧羰酰-L-酪氨酸对硝基苯酯（3g Mann 生化公司商品）溶于15mL纯干燥丙酮。溶液快速通过砂芯漏斗过滤，加200mL无水乙醚至滤液中。加入晶种并置冰箱中，48小时后分离得2.20g类似白色结晶。熔点150℃放入，156℃软化，158～160℃（分解）；文献熔点158～159℃[3]；155～157℃，155～156℃[4]；$[\alpha]_D^{23}$－8.5±0.5°(*C*＝3，丙酮)；文献$[\alpha]_D^{23}$－16.3°(*C*＝1，丙酮)，＋3.2°(*C*＝1，二氧六环[3]；$[\alpha]_D^{27}$－8.3±0.5°(*C*＝4，丙酮)，－8.1±1°(*C*＝1，丙酮)，－12.4±2°(*C*＝0.5，乙酸)[4]。熔点对光学纯度和化学纯度都是一个极好的判据。纯化产物在分光光度测定上含0.15～0.3%过量的对硝基苯酚。

用途 用作胰凝乳蛋白酶、木瓜蛋白酶和激肽释放酶的底物。

贮存 －20℃。

参 考 文 献

〔1〕 Perlmann G. E. :"Methods in Enzymology", Vol. XIX, Academic Press, New York and London, 39,1970.
〔2〕 Zerner B., Bond R. P. and Bender M. L. :*J. Am. Chem. Soc.*, 86, 3674(1964).
〔3〕 Martin C. J., Golubow J. and Axelrod A. E. ; *J. Biol. Chem.*, 234294,1718(1959).
〔4〕 Iselin B. and Schwyzer R. ;*Helv. Chim. Acta.*, 43 1760,(1960).

N-苄氧羰酰-L-缬氨酸对硝基苯酯　　Ⅱ-2(2)-0016

N-Carbobenzoxy-L-valine-*p*-nitrophenyl ester

别名　Cbz-Val-ONp

结构式



分子式　$C_{19}H_{20}N_2O_6$　　**分子量**　372.38

理化参数　熔点62～64℃，63℃。〔α〕$^{23}_{D}$－25.0°(C＝2，二甲基甲酰胺)；〔α〕$^{20}_{D}$－24.4°(C＝2，二甲基甲酰胺)

制备方法

1[1]、*N*-苄氧羰酰-L-缬氨酸（0.01mol）和三乙胺（0.01～0.012mol）在适当的溶剂（10～20mL；三氯甲烷，四氢呋喃，乙酸乙酯或二甲基甲酰胺等）中溶液在室温下滴加到二甲基对硝基苯氧氯甲亚胺的铵盐悬浮液（0.01～0.012mol）中。反应一般在10～20分钟内完成。所形成的酯溶于乙酸乙酯，抽提物用水洗涤，用硫酸镁干燥。除去溶剂后即得产物。产率60%。熔点62～64℃。〔α〕$^{23}_{D}$－25.0°(C＝2，二甲基甲酰胺)。

2[2]、0.001mol苄氧羰酰-L-缬氨酸溶于2mL乙酸乙酯（或三氯甲烷）和0.16mL(0.002mol）吡啶的混合液中，并与324mg(0.001mol）亚硫酸双对硝基苯酯混合。在50℃加温3小时后，置0℃冷却的溶液用2mol/L盐酸，饱和硫酸氢钠溶液和水洗涤。干燥后蒸发除去溶剂，所得结晶从乙醚-石油醚中重结晶，产率85%。

		C	H	N
$C_{19}H_{20}N_2O_6$(372.38)计算含量		C 61.28	H 5.41	N 7.52
	实测	61.49	5.43	7.49

贮存　－20℃。

参 考 文 献

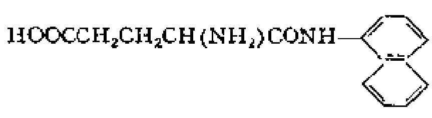
〔1〕 Itoh M. ;*Chem. Pharm. Bull.*, 18,784(1970).
〔2〕 Iselin B., Rittel W., Sieber P. and Schwyzer R. ;*Helv. Chim. Acta.*, 40,373(1957).

γ-L-谷氨酰-α-萘酰胺　　Ⅱ-2(2)-0017

γ-L-Glutamyl-α-naphthylamide

别名　L-Glutamic acid-γ-1-naphthyl amide

结构式



分子式　$C_{15}H_{16}N_2O_3$　　**分子量**　272.30

理化参数 熔点185℃。$[\alpha]_D^{20}$ 28°(C=3,1mol/L盐酸)。

制备方法[1] 12.95g (0.05mol) 邻苯二甲酰-L-谷氨酸酐加热溶于30mL 干二氧六环中,冷却后加入7.15g(0.05mol)α-萘胺。所得溶液加热至45℃,不时搅拌30分钟,然后减压蒸发。剩下的油状物溶于50ml/L碳酸钠中,过滤,用水稀释至300mL,然后用70mL 2mol/L盐酸酸化。沉淀过滤,用蒸馏水洗涤,用真空干燥器在无水氯化钙上干燥。溶于250mL乙醇,加入7.45g(0.05mol) 三乙胺和8.1g(0.075mol) 纯苯肼。混合物回流2小时,冷却,加3g (0.05mol) 冰乙酸。置4℃过夜,用布氏漏斗过滤,用乙醇洗涤3次,乙醚洗1次,空气中干燥。粗产物溶于400mL水中,加热至90~95℃,加入0.5g活性炭,搅拌,趁热过滤。12小时后,用布氏漏斗收集结晶产物,用乙醇洗涤,置真空干燥器中氯化钙上干燥。产量6g,产率44%纯的γ-L-谷氨酰-α-萘酰胺。

$C_{15}H_{16}N_2O_3$(272.30)计算含量	C 66.16	H 5.93	N 10.29
实测	66.33	5.78	9.95

范氏测定α-氨基氮为4.97%(计算值5.15%)

用途 测定γ-谷氨酰转肽酶活力用底物。

贮存 -20℃避光,干燥保存。

参考文献

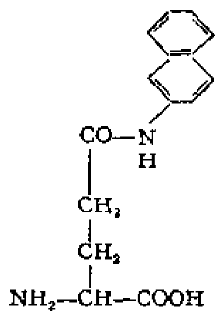
[1] Ortowski M. and Szewczuk A.: *Acta Biochim. Polon.*, 8, 189(1961)

L-γ-谷氨酰-β-萘酰胺 Ⅱ-2(2)-0018

L-γ-Glutamyl-β-naphthylamide

别名 L-Glutamic acid-γ-2-naphthyl amide; L-γ-Glutamyl-βNA; H-Glu (βNA)-OH

结构式



分子式 $C_{15}H_{16}N_2O_3$ **分子量** 272.30

理化参数 熔点205℃。$[\alpha]_D^{20}$+17.1°(C=5, 60%乙酸)[2]。

制备方法[1] 同γ-L-谷氨酰-α-萘酰胺(Ⅱ-2(2)-0017)。

粗产物溶于150mL 0.5mol/L氢氧化钠中,快速过滤,用水稀释至400mL,加入100mL 1mol/L乙酸使之沉淀。在布氏漏斗上过滤沉淀,用水和乙醇洗涤,真空干燥器中用氯化钙干燥。

用途 作为γ-谷氨酰转肽酶的高度专一的底物;蛋白水解酶的组织化学底物。

贮存 -20℃,避光,干燥保存。

参 考 文 献

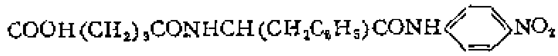
〔1〕 Ortowski M. and Szewczuk A.: *Acta Biochimica Polon.*, 8, 189(1961).
〔2〕 Chemalog catalog/handbook Biochemicals Organic Chemicals, Chemical Dynamics Corp., South Plainfield, N. J., 226, 84/85.

戊二酰-L-苯丙氨酸对硝基苯胺 Ⅱ-2(2)-0019

Glutaryl-L-phenylalanine-*p*-nitroanilide

别名 GPANA; Glt-Phe-Nan; Glutaryl-Phe-pNA

结构式



分子式 $C_{20}H_{21}N_3O_6$ **分子量** 399.39

理化参数 熔点203℃。

制备方法[1]

1. L-苯丙氨酸对硝基苯胺 对硝基苯胺（16.1g, 0.116mol）溶于内含12mL吡啶的100mL二氧六环中，用三角烧瓶盛载，并配有磁力搅拌。搅拌30分钟后，在搅拌下加入17.5g(0.0796mol)L-苯丙氨酰氯盐酸盐。反应进行3小时后，加入500mL水，悬浮液用浓盐酸盐化至pH2。过滤除去沉淀并弃去。用10%碳酸钠调节滤液的pH至9；结果产生黄色沉淀，置冰箱内24小时后过滤收集。从乙醇-水混合物中重结晶。产量13.4g，产率59%（以L-苯丙氨酰氯盐酸盐计）。熔点160～161℃；$[\alpha]_D^{25}$ +82.4°(C=1, 甲醇)。

$C_{15}H_{15}N_3O_3$ (285.3)	计算含量	C63.2	H5.3	N14.7
	实测	63.2	5.4	14.5

2. 戊二酰-L-苯丙氨酸对硝基苯胺 L-苯丙氨酸对硝基苯胺（9.0g, 0.032mol）溶于150mL干三氯甲烷中。需要稍加温以得到澄清溶液。在搅拌下，一次加入7.0g戊二酸酐在110mL三氯甲烷中的溶液。几分钟内一个重的沉淀开始出现。在室温下继续搅拌2小时，过滤收集产品，并从乙醇-水中重结晶。产量11.6g，产率90%。

$C_{20}H_{21}N_3O_6$(399.39)	计算含量	C60.1	H5.3	N10.5
	实测	60.0	5.2	10.4

用途 作胰凝乳蛋白酶的专一发色底物。

贮存 -20℃，避光，干燥保存。

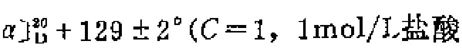
参 考 文 献

〔1〕 Erlanger B. F., Edel F., and Cooper A. G.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 115, 206(1966).

L-白氨酸对硝基苯胺 Ⅱ-2(2)-0020

L-Leucine-*p*-nitroanilide

结构式



分子式 $C_{12}H_{17}N_3O_3$ **分子量** 251.29

理化参数 熔点86～88℃。$[\alpha]_D^{20}$ +129±2°(C=1, 1mol/L盐酸)。

制备方法[1]

1．苄氧羰酰-L-白氨酸对硝基苯胺　1.5g苄氧羰酰-L-白氨酸加0.78g对硝基苯胺溶于12mL无水四氢呋喃中，和1.3g*N*, *N'*-二环己基碳二亚胺溶于8mL无水四氢呋喃中在排除水分的情况下，室温放置24小时。经抽滤除去*N*, *N'*-二环己基脲沉淀后，滤液用50mL乙酸乙酯稀释，用1%碳酸氢钠溶液洗2次，然后用水洗，用硫酸镁干燥。蒸馏除去乙酸乙酯后，留下黄色油状物，其后固化成结晶（2g）。从乙醇中重结晶得0.6g，产率30%。熔点148～151℃。

$C_{20}H_{23}N_3O_5$(385.4)计算含量		C 62.33	H 6.02
	实测	62.77	6.19

2．L-白氨酸对硝基苯胺　0.5g苄氧羰酰-L-白氨酸对硝基苯胺与5mL氢溴酸-冰乙酸在排除水分的情况下成为清溶液。然后，加入100mL无水乙醚。L-白氨酸对硝基苯胺氢溴酸盐以油状分离出来。倾泌乙醚，油状物溶于50%乙醇，产物用稀氨水沉淀。得量0.12g，产率40%。熔点89～90℃（从80%乙醇中重结晶）。

$C_{12}H_{17}N_3O_3$(251.3)计算含量		C 57.35	H 6.81
	实测	57.41	6.69

用途　用作白氨酸氨肽酶M的底物。

贮存　0～+5℃，避光，干燥保存。

参　考　文　献

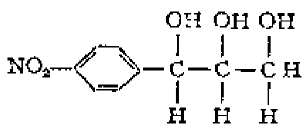
〔1〕 Tuppy H., Wiesbauer, U. und Wintersberger E.; *Z. Physiol. Chem.*, 329,278(1962).

α-对硝基苯甘油　　Ⅲ-2(2)-0021

α-p-Nitrophenyl glycerine

别名　PNPG; DL-1-(4-Nitrophenyl)glycerol; 1-*p*-Nitrophenyl-propana-1,2,3-triol

结构式



分子式　$C_9H_{11}NO_5$　　**分子量**　213.19

理化性质　类白色结晶。有用的添加剂能抑制变性杆菌B在培养基中的非所需的群生，但不影响其生长；是致病菌的一种鉴定剂。

理化参数　熔点95～97℃。

制备方法[1]　通过1-(对硝基苯基)-1,2-环氧-3-丙醇，(Ⅰ)的水解制得。含(Ⅰ)的混合物和草酸在水中置蒸汽浴上在80～90℃加热3小时，加入碳酸钙，混合物冷至室温，得*α*-对硝基苯甘油。产率61%。

用途　用作致病菌的一种鉴定剂。

贮存　0～+5℃。

参　考　文　献

〔1〕 Rudnick K.; *Chem. Abstr.*, 78,71662 p(1973).

N^{α}-对甲苯磺酰-L-精氨酸甲酯盐酸盐　　Ⅱ-2(2)-0022

N^{α}-p-Tosyl-L-arginine methyl ester hydrochloride

别名　TAME

结构式　$H_2NC(=NH)NH(CH_2)_3CH(NHSO_2C_6H_4CH_3)CO_2CH_3\cdot HCl$

分子式　$C_{14}H_{22}N_4O_4S\cdot HCl$　　**分子量**　378.88

理化参数　熔点145～147℃。$[\alpha]_D^{24}-14°(C=4$，水)。

制备方法

1. N^{α}-对甲苯磺酰-L-精氨酸[1]　21g L-精氨酰单盐酸盐溶于115mL 2mol/L氢氧化钠中，并与20g对甲苯磺酰氯在400mL乙醚的溶液中搅拌。约25分钟后，结晶开始形成。3小时后，混合物用乙酸调节至pH9以沉淀结晶为对甲苯磺酰-L-精氨酸。数小时后过滤，得36g。从热水中重结晶1次。熔点256～257℃（分解）。

$C_{13}H_{20}N_4O_4S\cdot 3H_2O$(382.3)计算含量	C 40.8	H 6.8	N 14.7	H_2O 14.1
实测	40.7	6.7	14.6	14.1

2. N^{α}-对甲苯磺酰-L-精氨酸甲酯盐酸盐[2]　上述产物在0℃用干燥氯化氢气体以通常方式在甲醇中酯化。这化合物的甲酯（TAME）在正丁醇中重结晶。

$C_{14}H_{22}N_4O_4S\cdot HCl$(378.88)计算含量	C 44.4	H 6.07	N 14.8
实测	44.01	6.09	14.8

用途　测定血纤维蛋白溶酶和胰蛋白酶的底物，酯键裂解后，测定A_{247nm}的增加。

贮存　-20℃，干燥保存。

参考文献

〔1〕 Bergmann M., Fruton J. S., and Pollok H.: *J. Biol. Chem*, 127,643(1939).

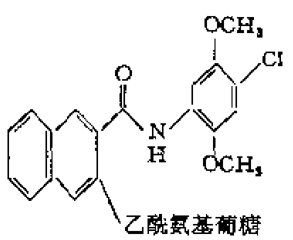
〔2〕 Troll W., Sherry S. and Wachman J.: *J. Biol. Chem.*, 208,85(1954).

N-乙酰-β-氨基葡糖萘酚AS-LC　　Ⅱ-2(2)-0023

N-Acetyl-β-glucosamine naphthol AS-LC

别名　Naphthol AS-LC-N-acetyl-β-D-glucosamine; 2-Acetamido-2-deoxy-β-D-glucosidoxy naphthol AS-LC; Naphthalene-2-〔2′-acetamido-2′-deoxy-β-D-glucosidoxy〕-3-carboxy〔2″, 5″-dimethoxy-4″-chloroanilide〕

结构式



分子式　$C_{27}H_{29}N_2O_9Cl$　　**分子量**　560.98

理化参数　熔点207℃。$[\alpha]_D^{21}-76.8°(C=0.5$，30%二甲基甲酰胺)。

制备方法[1]

1. 萘-2-(2′-乙酰氨基-3′,4′,6′-三-O-乙酰-2′-脱氧-β-D-葡糖缀氧)3-羧基-(2″,5″-

二甲氧基-4″-氯苯胺)萘酚衍生物的制备　萘酚 AS-LC 从乙醇/三氯甲烷中重结晶，并用它（4.0g）与乙酰氯代氨基葡糖（4.0g）在丙酮（70ml）和1mol/L氢氧化钠（13mL）中缩合。完全溶解后，混合液置室温16小时，减压蒸发丙酮，剩下黄色残留物。残留物溶于三氯甲烷（200mL），用5%氢氧化钠抽提10次，每次100mL，再用水抽提2次，将三氯甲烷层干燥，蒸发至浆状，加入乙醚后得结晶。从乙醇中重结晶得2.4g（31%）的萘-2-(2′-乙酰氨基-3′,4′,6′-三-*O*-乙酰-2′-脱氧-*β*-D-葡糖缀氧)3-羧基-(2″,5″-二甲氧基-4″-氯-苯胺)，熔点192℃（182°软化），$[\alpha]_D^{25}-51°$（$C=1.0$，三氯甲烷）

$C_{35}H_{35}N_2O_{12}Cl$计算含量	C 57.5	H 5.1	N 4.1
实测	57.1	5.1	4.0

2．*N*-乙酰-*β*-氨基葡糖萘酚AS-LC　上述四乙酸盐（0.8g）悬浮于干燥甲醇（6mL）中，在震播下加入1mol/L甲醇钠（0.3ml）。经5℃，16小时放置后，过滤固体，并从50%乙醇中重结晶得0.5g（76%）产物。

$C_{27}H_{29}N_2O_9Cl$(560.98)计算含量	C 57.8	H 5.2	N 5.0
实测	57.8	5.2	5.0

用途　是一种用于组织化学上证明*N*-乙酰氨基葡糖酶的底物以及用于定量测定系统。

贮存　-20℃保存。

参 考 文 献

〔1〕 Anderson F. B. and Leaback D. H.: *Tetrahedron.*, 12, 236(1961).

脱氧核糖核酸甲基绿　Ⅱ-2(2)-0024

Deoxyribonucleic acid methyl green

别名　DNA-methyl green

制备方法[1]

甲基绿（乙基化已甲基副品红碱[2]）"85%染料含量"（实测54%）溶于0.2mol/L pH 4.1乙酸缓冲液中使成0.25%（以商品染料重量计）溶液。此溶液反复用三氯甲烷抽提以除去结晶紫，直至不再有颜色被三氯甲烷除去为止。染料溶液保存于深色瓶中，置黑暗处。在此条件下它能稳定几个月。摩尔消光系数在最高值，630nm，为74400。

天然脱氧核糖核酸染色：用77%甲基绿染料（C. I. 42590号），按照Kurnick[2]方法制备。溶液可以反复使用，但是，当pH下降至4.5以下时则应弃去。

用途　用作脱氧核糖核酸酶（DNA酶）的底物。

贮存　-20℃。

参 考 文 献

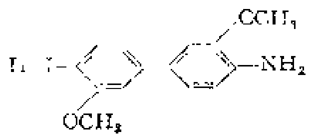
〔1〕 Boyd J. B. and Mitchell H. K.: *Anal. Biochem.*, 13, 28(1965).
〔2〕 Kurnick N. B.: *Exptl. Cell Res.*, 1, 151(1950).

邻联（二）茴香胺　Ⅱ-2(2)-0025

o-Dianisidine

别名　3,3′-二甲氧基联苯胺3,3′-Dimethoxybenzidine；联甲氧基苯胺；3,3′-二甲氧基-〔1,1′-联苯〕-4,4′-二胺3,3′-Dimethoxy-〔1,1′-biphenyl〕-4,4′-diamine

结构式



分子式 $C_{14}H_{16}N_2O_2$ **分子量** 244.28

理化性质 白色结晶。溶于乙醇、苯和乙醚，不溶于水。长时间存放颜色变深。有毒，对皮肤有刺激性，高浓度可能致肝癌。

理化参数 熔点137～139℃。

制备方法[1] 加入邻硝基苯甲醚到含有氢氧化钠的甲醇中，加入时间需要耗用2小时。用粉状锌还原得氢代苯甲醚，产率95%；经稀硫酸重排后得邻联（二）茴香胺，产率84.5%。

用途 用于制备偶氮染料。

贮存 室温。

参 考 文 献

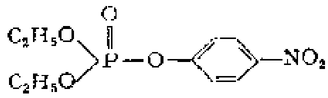
〔1〕 Kutepov D.F. and Reinshtein V.E.; *Zhur. Prikl ad. Khim.*, 30, 1108(1957).

对硝基苯磷酸二乙酯 Ⅱ-2(2)-0026

Diethyl *p*-nitrophenyl phosphate

别名 Phosphoric acid diethyl-4-nitrophenyl ester; E600

结构式



分子式 $C_{10}H_{14}NO_6P$ **分子量** 275.21

理化性质 无色或淡黄色油状液体。略微有味。能与醚和其他有机溶剂相混溶；微溶于水，约2mg/ml(37℃)。水溶液在pH7时最稳定。毒性非常大，宜用安瓿封装。

理化参数 d_4^{20} 1.2736g/mL。沸点169～170℃（133Pa），沸点160～161℃（27Pa）。(n_D^{20}) 1.5105。紫外$\lambda_{最高值274nm}$($\varepsilon 8.9\times10^3$)

制备方法[1]

一、对硝基苯酚钠盐加氯代磷酸二乙酯。

二、苯磷酸二乙酯直接硝化而得。

用途 用作标准杀虫剂。胆碱酯酶的抑制剂，产生50%抑制所需抑制剂浓度为2.14×10^{-8}mol/L(37℃保温30分钟)。

贮存 0～+4℃于黑暗处贮存，瓶塞要用石蜡封严。储运需按毒品条例。有机有毒品，危规号：84060。

参 考 文 献

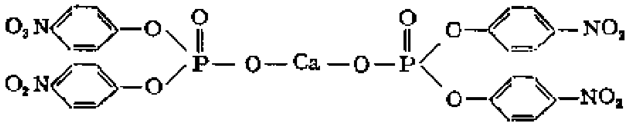
〔1〕 Schrader G.; *Angewandte Chemie.*, 62, 471(1950).

双对硝基苯磷酸钙盐 Ⅱ-2(2)-0027

Di-*p*-nitrophenyl phosphate calcium satt

别名 DiNpp; Bis-(*p*-nitrophenyl) phosphate calcium salt; BNPP; Bis-4-nitrophenyl phosphate calcium salt

结构式



分子式 $C_{24}H_{16}CaN_4O_{16}O_2$ **分子量** 718.43

理化性质 白色结晶。

制备方法[1,2]

三（4-硝基苯）磷酸按Rapp[1]方法用10倍过量的发烟硝酸以硝化三苯基磷酸。

4.6g三（4-硝基苯）磷酸加热溶于46mL乙醇中，并用10mL10%氢氧化钠水溶液混合。浑浊的溶液在水浴上加温至将近清，颜色成黄色。冷却后，溶液和250mL水温合，并在分液漏斗内用100mL乙酸抽提2～3次以除去少量没有皂化的三酯。水溶液过滤，用盐酸调pH至对刚果红呈中性，减压蒸发至$\frac{1}{2}$容积。

加入10%氯化钙，马上即有很多的DiNPP以钙盐沉淀析出，它在翌日转变为无色针状结晶。抽气过滤，结晶用水，然后用乙醚洗涤，在真空干燥器内干燥。钙盐含1分子结晶水。

制剂不含无机磷，也不含游离对硝基苯酚。为了分析酸化的磷酸将0.2985g不含结晶水的产物溶于1000mL水中，酯化的磷酸测定按Fiske-Subbarow方法进行。为了比色测定已结合的对硝基苯酚将溶液进一步用水稀释4倍，取1mL稀释液与等体积的15%氢氧化钠混合，小心地在火焰上直接加热，直至全部体积浓缩至$\frac{1}{3}$。然后用水重新注入10mL量筒中至刻度。

$(C_{12}H_8O_8N_2P)_2Ca$ (718.43) 计算含量P 8.64对硝基苯酚 77.5

实测8.55 76.7

用途 用作磷酸二酯酶、酸性磷酸酯酶Ⅰ的底物；酯酶的抑制剂。

贮存 －20℃保存。

参 考 文 献

〔1〕 Rapp M.; *Liebigs Ann. Chem.*, 224, 156(1884).

〔2〕 Yosbida S.; *J. Biochemistry*, 34, 23(1941).

弹性蛋白-刚果红 Ⅱ-2(2)-0028

Elastin-Congo Red

制备方法[1] 纯化的牛或马的弹性蛋白，置刚果红的饱和水溶液中，搅拌过夜使染色。用水充分洗涤直至洗涤液为无色，并接着用丙酮和乙醚依次洗涤至干。刚果红-弹性蛋白在研钵内研成细粉，通过120目筛子，并悬浮于0.02mol/L硼酸钠缓冲液（pH8.8）中，浓度为1mg/ml。

用途 弹性蛋白酶测定用底物。

贮存 0～+5℃保存。

参 考 文 献

〔1〕 Perlmann G. E.;"Methods in Enzymology", Vol. XIX, Academic Press, New York and London, 114,1970.

弹性蛋白-地衣红 Ⅱ-2(2)-0029

Elastin-orcein

制备方法[1]

1．弹性蛋白 马的颈背韧带除去薄的外包筋膜，然后在绞肉机中绞成小片。绞碎物用甲醇覆盖，在热水浴上回流1小时。倾泌除去醇，残留物用乙醚覆盖，再回流1小时。残留物干燥，加入预先加热至93～98℃的0.1mol/L氢氧化钠中，混合物保持此温度45分钟。倾出氢氧化钠溶液，残留物用水充分洗涤。此弹性蛋白（20g）空气干燥，在球磨机中研磨至40目大小。

2．弹性蛋白-地衣红 上述弹性蛋白悬浮于地衣红溶液中(1g地衣红在100mL含有1mL浓盐酸的70%乙醇中)。染色的弹性蛋白反复用大量的70%乙醇和蒸馏水洗，直至两种洗液都不带颜色，最后用70%乙醇洗涤，空气干燥，在研钵中磨细。用此样品按不含酶系统保温，其上清液没有颜色变化。含氮量14.5%。

用途 用作弹性蛋白酶的底物。

贮存 0～+4℃。

参 考 文 献

〔1〕 Sachar L. A., Winter K. K., Sicher N. and Frankel S., *Proc. Soc. Exp Biol. Med.*, 90, 323(1955).

血纤维蛋白-蓝 Ⅱ-2(2)-0030

Fibrin-blue

理化性质 在低pH时，为胃蛋白酶的底物。因为在高pH时，空白读数高，不能用于测定。

制备方法[1]

1．血纤维蛋白 新鲜，草酸（0.5%）处理牛血清用0.8%氢化钠溶液稀释30倍，然后加入7.3mL1mol/L氯化钙溶液。不要搅动，使凝胶形成，通过压成更固化形状或用玻棒搅拌以除去之。纤维搅拌洗涤，先用0.8%氯化钠洗3次，最后用蒸馏水洗3次，每次1小时。

洗过的纤维在空气中干燥，然后在球磨机中研碎，通过20目筛孔。产物为白色，不透明和明显是均一的。

2. 染料-蛋白质络合物——靛胭脂（Indigo carmine)-血纤维蛋白质 75g血纤维蛋白和1500mL0.018mol/L含0.5%靛胭脂的盐酸。混合物加热至80℃，并搅拌维持在此温度1.5小时。使冷却并通过4层纱布过滤。洗涤染色血纤维蛋白通过悬浮于过量的0.018mol/L盐酸并搅拌1.5小时。同前法过滤。约需洗涤4遍以得到一稳定的产物（即在0.018mol/L盐酸上不再有染料被洗出）。靛胭脂-血纤维蛋白在50℃干燥过夜，并在球磨机中研细，用一40目筛子过筛。研细的血纤维蛋白如果太细，通过100目筛子的可以弃去。

用途 在低pH时胃蛋白酶的底物。

贮存 室温。

参 考 文 献

〔1〕 Nelson W. L., Ciaccio E. I., and Hess G. P.; *Anal. Biochem.*, 2, 39(1961).

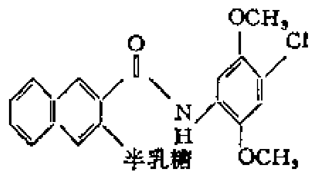
β-半乳糖萘酚AS-LC

Ⅱ-2(2)-0031

β-Galactose Naphthol AS-LC

别名 2-(β-D-Galactosidoxy) naphthol AS-LC; Naphthol AS-LC-β-D-galactoside; Naphthalene-2-〔β-D-galactosidoxy〕-3-carboxy-〔2″,5″-dimethoxy-4″-chloroanilide〕; (4′-Chloro-3-hydroxy-2′,5′-dimethoxy-2-naphthanilide)-β-D-galactoside; Naphthoic-2-hydroxy-3-(2′: 5′-dimethoxy-4′-chloroanilide)-β-D-galactoside

结构式



分子式 $C_{25}H_{26}NO_8Cl$ **分子量** 519.93

理化性质 从甲醇中重结晶。

理化参数 熔点206～207℃。$[\alpha]_D^{25}$ −87.0°(C=0.25，乙醇)。

制备方法[1] 参见N-乙酰-β-氨基糖萘酚AS-LC(Ⅱ-2(2)-0023) 的制备方法。

乙酰溴代半乳糖和萘酚AS-LC缩合，得萘-2-（2′:3′:4′:6′-四-O-乙酰-β-D-半乳糖缀氧）3-羧基-（2″:5″-二甲氧基-4″-氯苯胺）。熔点125℃。$[\alpha]_D^{25}$ −75.0°(C=1.0，氯仿)。

用同样的方法去乙酰化，从甲醇中重结晶得β-半乳糖萘酚AS-LC。产率65%。

$C_{25}H_{26}NO_8Cl$(519.93)计算含量C56.5H5.4N2.5

实测56.3 5.4 2.5

用途 β-半乳糖苷酶测定用底物。

贮存 −20℃。

参 考 文 献

〔1〕 Anderson F. B. and Leaback D. H.; *Tetrahedron* 12, 236(1961).

L-γ-谷氨酰对硝基苯胺　　Ⅱ-2(2)-0032

L-γ-Glutamyl-*p*-nitroanilide

别名　GLUPA；L-Glutamic acid-γ-4-nitroanilide

结构式



分子式　$C_{11}H_{13}N_3O_5 \cdot H_2O$　　**分子量**　285.25

理化性质　白色结晶。

理化参数　熔点183～186℃。ε_{315nm}13,000。

制备方法[1]　13.2g（0.051mol）邻苯二甲酰-L-谷氨酸酐悬浮于35mL冰乙酸中，加入6.9g(0.05mol）对硝基苯胺。混合物在60～65℃加热30分钟，然后减压在25℃浓缩得粗产物，置真空干燥器内以氯化钙和氢氧化钠干燥。产品研成细粉，溶于250mL甲醇中。加入水合肼（80%，0.1mol），溶液过滤以除去少量不溶物。置26℃48小时，有结晶产物分离出来。结晶在布氏漏斗上用冷蒸馏水、乙醇洗涤，然后真空干燥（氯化钙作干燥剂）。剧烈搅拌把产物悬浮于10倍冷 0.5mol/L 盐酸中，混合物滤入一分液漏斗内。用5倍的乙酸乙酯抽提以除去游离的对硝基苯胺。水层很快地过滤，加1mol/L碳酸钠以调 pH至7。立即有结晶形成；结晶依次用水，乙醇洗涤，然后在氯化钙上真空干燥。产量8.2g，产率61%。

用途　γ-L-谷氨酰转肽酶的底物，在405nm测定。

贮存　0～+5℃，避光，干燥保存。

参　考　文　献

〔1〕 Perlmann G. E.; "Methods in Enzymology", Vol. XIX, Academic Press, New York and London, 783, 1970.

2-（4-羟基偶氮苯）苯甲酸　　Ⅱ-2(2)-0033

2-(4-Hydroxyazobenzene)benzoic acid

别名　HABA；2-(4′-Hydroxyphenylazo) benzoic acid；2′-Carboxyphenyl-azo-phenol-4

结构式

分子式　$C_{13}H_{10}N_2O_3$　　**分子量**　242.23

理化性质　浅黄色至褐色针状结晶，在甲醇中重结晶。λ最高值在348nm。氮含量11.11%。

理化参数　熔点206～208℃。

制备方法[1,2]

一、1g *o*-$NH_2C_6H_4COOH$在5mL浓盐酸和少量冰中，在0～5℃以0.74g亚硝酸钠在10mL水中进行偶氮反应。混合物偶入一含1g苯酚的碱性溶液。红色溶液放置数小时，用盐

酸酸化，沉淀分离，在105℃干燥。从甲醇中重结晶。熔点206～208℃。纸层析（24%乙酸在以水饱和的甲苯中）单斑。进一步重结晶并无变化。

二、邻氨基苯甲酰羟胺(1.37g)在25mL水中和6.6g 20%盐酸用1.24g亚硝酸钠处理，混合物用1.6g苯酚和1.0g苯酚在50mL水中处理。1小时后，加入过量的乙酸，得2.18g(对羟基偶氮苯)苯甲酸-邻。熔点200～205℃。

$C_{13}H_{10}N_2O_3$(242.23)计算含量N 11.11%

实测 11.22%

用途 用作血清白蛋白测定中的指示剂；甲状腺素的结合；抗生物素蛋白和生物素的分光光度测定。

贮存 室温。

参 考 文 献

〔1〕 Ospenson J.N.: *Acta Chem. Scand.*, 4,1351(1951).

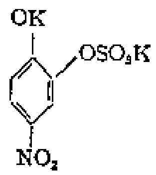
〔2〕 Leffler J.E. and Bothner-By A.A.: *J. Am. Chem. Soc.*, 73,5473(1951).

2-羟基-5-硝基苯硫酸二钾盐 Ⅱ-2(2)-0034

2-Hydroxy-5-nitrophenyl sulfate dipotassium salt

别名 4-Nitrocatechol sulfate dipotassium salt

结构式



分子式 $C_6H_3K_2NO_7S\cdot 2H_2O$ **分子量** 347.38

理化性质 黄色结晶。1g溶于10mL水中，澄清。

制备方法[1] 70g氢氧化钾和70g过硫酸钾溶于1L水中，加入30g对硝基苯酚。反应混合液置37℃48小时，然后用硫酸酸化至pH4，游离的苯酚用乙醚抽提。水溶液用氢氧化钾调至对石蕊强碱性，真空浓缩至约300mL。溶液和沉淀倒入至2倍体积的丙酮中，混合液过滤。残留物用丙酮-水(2:1，v/v)洗涤后，合并滤液真空蒸发至干，残留物从水中重结晶3次，得鲜艳的黄色2-羟基-5-硝基苯硫酸二钾盐二水合物结晶。产量约3g。

$C_6H_3NO_7SK_2\cdot 2H_2O$(347.38)计算含量C20.3H 2.03 N4.03 K22.5

实测20.2 1.87 4.02 23.0

产物有时带杂质，后者向阳极移动较产物快（纸电泳；3小时250V，0.1mol/L乙酸缓冲液，pH4.2）。

提纯方法[1] 上述2-羟基-5-硝基苯硫酸二钾盐溶于最小量水中，溶液以冰乙酸调至pH4.2。收集单钾盐的沉淀，用少量水洗涤，并从水中重结晶2次。结晶物悬浮于水中，加入浓氢氧化钾直至结晶完全溶解，pH增高至约11。在搅拌下加入过量的乙醇，沉淀的2-羟基-5-硝基苯硫酸二钾盐过滤，用乙醇洗涤，真空干燥。

纸电泳表明原来的杂质集中在母液中。

用途 测定芳（香）基硫酸酯酶的产生荧光的底物。比色法测定芳基硫酸酯酶的底物。

用在聚丙烯酰胺凝胶中测定芳基硫酸酯酶。

贮存 −20℃。

参考文献

〔1〕 Roy A. B.; *Biochemical J.*, 53, 12(1953).

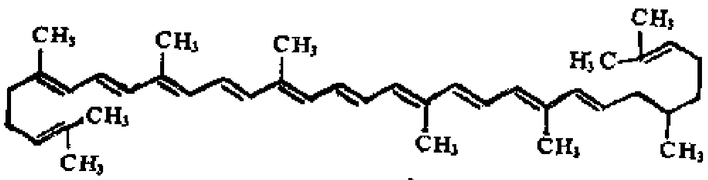
〔2〕 Dodgson K. S. and Spencer B.; *Biochim. Biophys. Acta.*, 21, 175(1956).

番茄红素 Ⅱ-2(2)-0035

Lycopene

别名 ψ, ψ-Carotene

结构式



分子式 $C_{40}H_{56}$ **分子量** 536.85

理化性质 长针状深红色结晶。在0℃1g溶于50mL二硫化碳、3L沸乙醚、12L沸石油醚、14L己烷。溶于三氯甲烷，苯；几乎不溶于甲醇，乙醇。在二硫化碳+乙醇，从二氯甲烷+甲醇中重结晶。C89.48%，H10.51%。存在于成熟的果子（特别是番茄）中的类胡萝卜素。1kg新鲜成熟番茄得0.02g番茄红素。

理化参数 熔点172～173℃。吸收高峰(反式)：446，472，505nm ($A_{1cm}^{1\%}$ 2250,3450,3150)。15,15′-顺式熔点约105°，然后再固化；吸收高峰：361，444，470，502nm ($A_{1cm}^{1\%}$ 1110，1280，1660，1280)。$\varepsilon_{m(472\sim473nm)}$18.6×10⁴在已烷中。

制备方法[1]

1．番茄红素的抽提 罐头番茄酱1kg置5 l 广口瓶中，加入1.3L甲醇使脱水。混合物立即剧烈振摇，否则将形成硬块。用手检查悬浮液；如果它仍有胶稠性，再加多一点甲醇以避免堵塞漏斗。放置1～2小时，再剧烈振摇。浓悬浮液用蓝式离心机分离。弃去黄色滤液。

深红色滤饼放回瓶子，和650mL甲醇，650mL四氯化碳振摇。瓶盖必须关紧，摇后要等一会使压力释放后再打开。反复短时间提摇和打开瓶子直至不再有多余压力。悬浮液机械振摇20分钟，离心或过滤。滤液包括深红色四氯化碳相和橙色甲醇水相。将那仅稍带有颜色的番茄残留物用手弄碎形成均匀粉末。重新用650mL甲醇，650mL四氯化碳同前抽提，悬浮液过滤。抽提完毕，残液样品在滤纸上干燥应呈无色或黄色但不是红色。如需要可抽提第3次。

合并滤液，甲醇层移入4L分液漏斗内，加等容积的水，上层出现白色乳化液。如果乳化液为红色，用玻璃棒搅拌直至四氯化碳小滴和下层相连。尽量虹吸掉上层，反复此过程直至所有抽提液（甲醇及四氯化碳相）加至分液漏斗中。余下的深红色溶液使之不含甲醇和其他杂质，方法：垂直放入一玻管（直径0.5cm）插至漏斗底，并通过慢速水流10分钟。四氯化碳溶液流入2L三角烧瓶中，用无水硫酸钠干燥。抽提液用折迭滤纸过滤到装备有标准尖

梢的2 L圆底烧瓶。溶剂在60℃水浴内用水泵蒸发至约 100mL。溶液用吸液管移入200mL圆底烧瓶，用数mL四氯化碳洗大烧瓶。真空除净溶剂。

2．粗产物的纯化　深色油状物用数mL苯稀释，再次蒸发除尽四氯化碳。部分结晶的深色残留物定量地用25mL苯移入 125mL 三角烧瓶。瓶子浸入热水浴内得清溶液。分批滴加沸甲醇至苯溶液中，每加完一次要搅拌，直至加入15mL甲醇为止。粗番茄红素立即开始出现。液体先置室温，然后置冰水浴中1～2小时，结晶完全，用小型中等通透度的砂芯漏斗收集结晶。停止抽气，在结晶上倒入5～10mL沸甲醇，用玻棒作非常短时间的搅拌，重新在甲醇冷之前抽气。反复处理，直至总共约用50mL沸甲醇。弃去母液与合并洗液，母液约含番茄红素总量的10%，而回收母液是不实际的。

番茄红素结晶移入50mL离心管内，最后从漏斗中用少量沸苯溶解下来。加苯至离心管中，使总容积为 25mL。把管子浸入热水中并搅拌管内物使成溶液。如果溶液不清，再加数mL苯。当得一清液（应快速操作下去。如果放置过夜，番茄红素应保存于冷室）用滴管小部分加入沸甲醇，溶液用玻棒搅拌直至结晶开始出现。离心管先置室温短时间，然后置冰浴内。在搅拌下，再加多一点甲醇至冷溶液中。总用量不应超过20mL。

混合物置冰浴2小时，结晶用高速离心机短时间分离。母液倾泌并弃之。结晶在离心管内用25mL沸甲醇处理。混合物搅拌，甲醇在冷却前离心除去。倾去甲醇，重复洗涤至少2次。如果结晶与纯化都是满意，显微镜下可观察到有长棱形的红色番茄红素均一结构。用Abderhalden仪器连离心管一同在室温真空干燥（60～130Pa）数小时，并称重。产量要视番茄酱的质量而定，246mg，263mg，212mg，和268mg（同一批酱4次实验）。熔点（封管）169℃。产率约98～99%（纯）。

3．层析纯化番茄红素　制备氢氧化钙柱（30×8cm；管33×8cm）。样品溶于 50mL苯中（40～45℃短时间加热）。溶液加等体积石油醚（沸点60～70℃）稀释并立即注入柱内。展层用约1.5 L 4:1石油醚-丙酮。下列描述左边数字代表区带的宽度（mm）

25　将近无色
35　浅粉红色
85　深橙红色；番茄红素
3　橙色；新番茄红素
7　黄色；新番茄红素
滤液　黄色

在展层的第一阶段，深红色区域可能出现在靠近番茄红素区域的上部。这是由于色素暂时结晶所致，在展层的过程中再消失。

柱被挤出；番茄红素切出，迅速用刀斩碎并移入一个2 L广口三角瓶，立即用丙酮浸过以洗脱色素。温和地振摇数分钟后，均一的悬浮液在抽气下倒入砂芯漏斗（12.5cm直径）。加入新鲜丙酮直至流出液和吸附剂都几乎无色；通常需2 L丙酮。

丙酮溶液按下列方式加到置于 2L分液漏斗中的200mL苯内。首先，加足够量的丙酮溶液使液体占漏斗容积的一半。此时加1倍水把色素移入上展（苯）。几分钟后，无色的下层（水-丙酮）放掉并弃去。同上加入新的番茄红素溶液。最后全部色素将存在于约350mL苯-石油醚（后者原在洗脱液中）中。

溶液用水洗10次以除尽丙酮，并移入750mL三角烧瓶，在硫酸钠上干燥。过滤至500mL具标准尖梢的圆底烧瓶内，真空除尽溶剂。结晶定量地用15mL苯移入一称过重的50mL离心

管内，番茄红素用15mL甲醇同上结晶。可用冰冷甲醇处理结晶，约回收70%。纯番茄红素熔点173℃。

贮存 番茄红素在溶液中甚至在20℃进行异构。结晶的番茄红素不异构，但是倾向自身氧化，特别是在光线下。应该保存于抽真空的玻管内置-20℃黑暗处。如果这办不到，可以保存于干燥、不含酸的氮或二氧化碳下。

参考文献

〔1〕 Carter H. E.:"Biochemical Preparations", Vol. 1, John Wiley and Sons, Inc., New York, Chapman and Hall, Ltd., London, 57~63, 1949.

磷酸3-*O*-甲基荧光素环己铵盐　　Ⅱ-2(2)-0036

3-*O*-Methylfluorescein phosphate cyclohexylammonium salt

别名 3-*O*-Methylfluorescein phosphate·CHA-salt

分子式 $C_{27}H_{28}O_8NP$　　**分子量** 525.49

制备方法[1] 甲基荧光素（5.2g，15mmol）溶于50mL吡啶中，置冰浴中冷却，并一次加到氧氯化磷（2.75mL在50mL吡啶中）中。在0℃30分钟后，混合液倒至100g冰上，溶剂在30℃减压蒸发。残留物溶于200mL 2-丁醇或1-丁醇（常常有一些不溶物留下），并用饱和硫酸钠水溶液抽提5次，每次100mL。有机相在无水硫酸钠上干燥，并在30℃真空蒸发至干。残留物溶于最小量的水中（约50mL），并用1mol/L氢氧化钠小心地调节pH至7。加入乙醇（约100mL）直至钠盐开始沉淀。置0℃过夜后，离心收集沉淀，用少量冷乙醇洗涤。所得固体可以制成乙醇悬浮液保存于冰冻室，在此条件下它不致分解。如果以干燥形式保存，它迅速分解，很易从颜色中测出。

从约5mL上述悬浮液所得沉淀溶于最小量的（约5mL）水中，并加到环已铵盐型的Dowex 50WX8(10mL)悬浮于水（10mL）的悬浮液中。混合液搅拌10分钟，有一黄色固体沉淀。加入甲醇（约50mL）直至黄色固体完全溶解。过滤后，Dowex树脂用50mL甲醇洗涤；合并的滤液蒸发至约10mL。沉淀的固体过滤，并溶于最小量的温甲醇中。加入乙醚直至沉淀开始。置0℃过夜，收集沉淀，重结晶4或5次，得白色无定形无荧光的固体，熔点218~223℃分解。经过第一次重结晶后，沉淀难以产生。需要蒸发一部分甲醇再加多一点乙醚或把溶液置冷冻室中4～5天。

纸层析用Whatman 1号滤纸，溶剂系统 2-丙醇∶氨水（相对密度0.9）∶水=7∶1∶2；1-丙醇∶氨水（相对密度0.9）∶水=6∶3∶1都是均一的。R_f值分别为0.49和0.71。元素分析用样品在室温，五氧化二磷作为干燥剂，13Pa压力下干燥3天。

$CH_{27}H_{28}NO_8P$计算含量	C61.7	H5.4	N2.7	P5.9
实测	61.3	5.9	2.8	5.7

用途 用作磷酸酯酶荧光测定用底物。

贮存 -20℃。

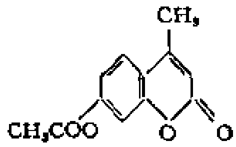
参考文献

〔1〕 Rotman B., Zderic J. A. and Edelstein M.: *Proc. National Acad. Sciences.*, 50, 1(1963).

4-甲基伞形酰乙酸酯　Ⅱ-2(2)-0037

4-Methylumbelliferyl acetate

结构式



分子式　$C_{12}H_{10}O_4$　**分子量**　218.21

理化参数　熔点150～151℃。

制备方法[1]　4-甲基伞形酮的酰化。10mL 干燥吡啶含 2g4-MU 和 100% 过量的乙酸酐、丁酸酐或己酸、庚酸、辛酸、壬酸、棕榈酸和油酸的酰氯混合。混合物在70℃保持 1 小时，冷却，用20mL水稀释，并加入至 100mL乙醚中。乙醚层用水抽提几遍后，蒸发除去乙醚。产物从甲醇或甲醇-丙酮（4-MU油酸酯）中结晶，然后经活性碳脱色后，从 Skellysolve B中重结晶。

用途　用作酯酶测定上用的产生荧光的底物。

贮存　-20℃。

参考文献

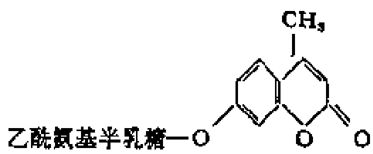
〔1〕 Jacks T. J., and Kircher H. W.; *Anal. Biochem.* 21, 279(1967).

4-甲基伞形酰-*N*-乙酰-β-D-氨基半乳糖苷　Ⅱ-2(2)-0038

4-Methylumbelliferyl-*N*-acetyl-*β*-D-galactosaminide

别名　4-Methylumbelliferyl-2-acetamido-2-deoxy-*β*-D-galactopyranoside

结构式



分子式　$C_{18}H_{21}NO_8$　**分子量**　379.36

理化性质　结晶。

理化参数　熔点193～195℃。$[\alpha]_D^{20}-42°$($C=1$，吡啶)。

理化性质　所有甲基伞形酰衍生物在 280nm 和 315nm 处都有吸收带；但因R取代的性质不同，强度有差别。

在pH4.9和10.3时，制剂的稳定性可以和甲基伞形酰-*N*-乙酰-*β*-*D*-氨基葡糖苷相比。

制备方法[1]　按改良的标准方法[2]合成，特别要注意从制剂中除去痕量的残留的游离甲基伞形酮。

用途　用作*N*-乙酰-*β*-D-氨基半乳糖苷酶的荧光底物。

贮存　-20℃。

参 考 文 献

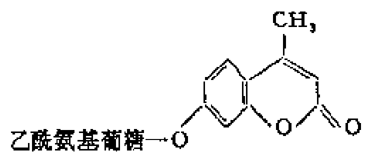
〔1〕 Leaback D. H.: *Biochem. J.*, 78,23p(1961).
〔2〕 Leaback D. H. and Walker P. G.: *Biochem. J.*, 78,151(1961).

4-甲基伞形酰-*N*-乙酰-β-D-氨基葡糖苷 Ⅱ-2(2)-0039

4-Methylumbelliferyl-N-acetyl-β-D-glucosaminide

别名 4-Methyl-2-OXO-1:2-benzopyran-7-yl-2′-acetamido-2′-deoxy-β- D-glucopyranoside

结构式



分子式 $C_{18}H_{21}NO_8$ **分子量** 379.36

理化参数 熔点212～214℃。$[\alpha]_D^{20}-14.5°$($C=0.1$，水)。

制备方法[1] 4-甲基伞形酮（商品)，按Mead等方法〔*Biochem. J.* 61，569(1955).〕纯化。熔点186～187℃。

4-甲基伞形酰-*N*-乙酰-β-D-氨基葡糖苷 甲基伞形酮（1.9g）和5g乙酰氯代氨基葡糖〔*J. Chem. Soc.* 1957p. 4754〕溶于冷丙酮（70mL）中，并加入16.5mL 1mol/L氢氧化钠。在室温放置6小时后，再置5℃数天，乙酰化葡糖苷结晶而出；只有一小部分留在溶液中。固体从乙醇中重结晶，得2.9g，产率37%。4-甲基伞形酰四乙酰-β-氨基葡糖苷。熔点254～255℃。$[\alpha]_D^{20}-18.9°$($C=1$，三氯甲烷)。

$C_{24}H_{27}NO_{11}$	计算含量	C57.0	H 5.6	N 2.8
	实测	56.8	5.5	2.9

乙酰葡糖苷（1g）悬浮于50mL无水甲醇中，加入1mL的甲醇钠后，化合物迅速变成溶液；数分钟后，去*O*-乙酰化合物开始结晶。混合物放置过夜，过滤固体。固体从热水中重结晶，痕量的甲基伞形酮通过机械搅拌产物在丙酮（100mL）中的悬浮液16小时以除去之；过滤得0.49g（产率62%）甲基伞形酰-L-乙酰-β-氨基葡糖苷。纸层析检测产物中，游离甲基

$C_{18}H_{21}NO_8$(379.36)计算含量	C 57.0	H5.5	N3.7
实测	57.1	5.6	3.6

伞形酮杂质含量用Whatman 1号滤纸，下行，非极性溶剂系统：丁醇-乙醇-水（4:1:5，v/v），在汞灯(Wood's玻璃滤片）下观察，层析谱光要短时间加热至105℃并用氨蒸气熏过。甲基伞形酰-*N*-乙酰-β-氨基葡糖苷的R_f值为0.6，如果有游离甲基伞形酮，其R_f值为0.9。二者都为荧光斑点。

用途 用作*N*-乙酰-β-D-氨基葡糖苷酶的荧光底物。

贮存 －20℃。

参 考 文 献

〔1〕 Leaback D. H. and Walker P. G.: *Biochem. J.*, 78, 151(1961).

2′-(4-甲基伞形酰)-α-D-N-乙酰神经氨酸钠盐　Ⅱ-2(2)-0040

2′-(4-Methylumbelliferyl)-α-D-N-acetylneuraminic acid sodium salt

别名 Sodium (4-methylumbelliferyl)-α-D-N-acetylneuraminate; 2′-(4-Methylumbelliferyl) sialic acid sodium salt

分子式 $C_{21}H_{24}NO_{11}Na \cdot 2H_2O$　**分子量** 525.43

理化参数 $[\alpha]_D + 51°$($C = 0.99$，水)；紫外$\lambda_{最大}$(甘氨酸缓冲液，pH10.7) 315nm ($\varepsilon_{最大}$ 13,300)。

制备方法[1] 蒸发是在减压40℃以下进行。

4-甲基伞形酰-α-D-4,7,8,9-四-O-乙酰-N-乙酰神经氨酸甲酯的制备按Koenigs-Knorr[2]方法制备。

2-脱氧-2-氯代-4，7，8，9-四-O-乙酰-N-乙酰神经氨酸甲酯 (340mg, 0.66mmol) 溶于无水乙腈 (20mL) 中，并加入干燥、新鲜制备的碳酸银 (180mg)，干燥4-甲基伞形酮 (140mg, 0.79mmol)，和活化分子筛 (2g)。混合物在氮气下，室温黑暗处搅拌24小时，过滤，蒸发。

残留物溶于最小量乙酸乙酯中，上硅胶柱 (60～200目，2.2×40cm)，柱预先用乙酸乙酯处理。柱用乙酸乙酯洗脱。随后用硅胶(乙酸乙酯)制备型薄层层析纯化得220mg (0.34mmol) 4-甲基伞形酰-4,7,8,9-四-O-乙酰-α-D-N-乙酰神经氨酸甲酯，产率51%。从三氯甲烷-戊烷中结晶。熔点82～83℃。$[\alpha]_D + 37°$($C = 1.01$，三氯甲烷)；紫外$\lambda_{最大}$(乙醇) 229nm ($\varepsilon_{最大}$55000)。

		C	H	N
$C_{30}H_{35}NO_{15}$	计算含量	55.48	5.43	2.16
	实测	55.20	5.22	2.04

上述产物和甲醇钠 (0.02mol) 在无水甲醇中搅拌30分钟。溶液过滤，溶剂蒸发。残留物溶于24mL 0.2mol/L碳酸氢钠缓冲液 (pH9.0) 中，并在室温搅拌过夜。所得产物用制备型薄层层析 (三氯甲烷-甲醇-水＝15:10:0.5，v/v) 纯化得149mg(90%) 4-甲基伞形酰-α-D-N-乙酰神经氨酸钠盐。

		C	H
$C_{21}H_{24}NO_{11}Na \cdot 2H_2O$	计算含量	48.00	5.37
	实测	48.26	5.46

用途 用于神经氨酸酶测定中，一种灵敏的荧光底物。

贮存 －20℃。

参 考 文 献

〔1〕 Potier M. Mameli, L., Bélisle, M., Dallaire, L. and Melançon, S. B.: *Anal. Biochem.*, 94, 287(1979).
〔2〕 Koenigs-Knorr.: *Ber.*, 34, 957(1901).

4-甲基伞形酮β-吡喃半乳糖苷　Ⅱ-2(2)-0041

4-Methylumbelliferyl-β-D-galactopyranoside

分子式 $C_{16}H_{18}O_8$　**分子量** 338.32

理化参数 熔点234～236℃。$[\alpha]^{20}_D - 64 \pm 2°$($C = 1$，吡啶)。

所有甲基伞形酰衍生物在280nm和315nm处都有吸收带；但因R取代的性质不同，强度也有差异。

在水中的溶解度明显地较之其他的β-糖苷小；这将限制了它作为酶底物的使用范围。

在pH4.9和10.3时，其稳定性可以和甲基伞形酰-N-乙酰-β-D-氨基葡糖苷相比。

制备方法[1] 按改良的标准方法[2]合成，特别要小心从制剂中除去残留的游离甲基伞形酮。

用途 用作β-D-半乳糖苷酶的荧光底物。

贮存 -20℃。

参 考 文 献

〔1〕 Leaback D. H.: *Biochem. J.*, 78, 23p(1961).

〔2〕 Mead, J. A. R., Smith, J. N. and Williams, R. T.: *Biochem. J.*, 61, 569(1955).

4-甲基伞形酰-β-D-吡喃葡糖苷 Ⅱ-2(2)-0042

4-Methylumbelliferyl-β-D-glucopyranoside

分子式 $C_{16}H_{18}O_8$ **分子量** 338.30

$C_{16}H_{18}O_8 \cdot 0.5H_2O$ 347.31

理化性质 无色针状结晶。

理化参数 熔点210～212℃。$[\alpha]_D^{20}-98\pm2°$(C=0.3，水)。

制备方法[1] 4-甲基伞形酮（11.5g，熔点180℃）溶于丙酮（140mL）中，加入乙酰溴代葡糖（19g），随后加氢氧化钠（3.6g）在水（90mL）中的溶液。混合物置室温过夜后，减压蒸发除去丙酮，粗产物从乙醇（活性炭）中重结晶4次。所得4-甲基伞形酰四乙酰-β-D-葡糖苷（5g）呈白色针状结晶，熔点144℃，$[\alpha]_D^{20}-40\pm2°$(C=0.5，三氯甲烷)。

$C_{22}H_{26}O_{12}$计算含量	C 56.9	H 5.2
实测	56.9	5.2

上述四乙酸酯（5g）以下列方法去乙酰化。在干燥的甲醇溶液（25mL）中加入数滴10%甲醇钡在干燥甲醇中。反应几乎立即进行，产生沉淀（3.5g）。反复从乙醇中重结晶，最后从水中重结晶，得4-甲基伞形酰-β-D-葡糖苷半水合物。无色针状结晶。熔点211℃。$[\alpha]_D^{20}-89.5\pm2°$($C$=0.5，水)。

$C_{16}H_{18}O_8 \cdot 0.5H_2O$(347.31)计算含量	C 55.4	H 5.5	H 2.6
实测	55.4	5.3	2.4

用途 用作β-D-葡糖苷酶的荧光底物。

在用作底物之前，糖苷需反复从乙醇和水中重结晶，直至荧光现象是可以忽视的。

贮存 -20℃。

参 考 文 献

〔1〕 Robinson D.: *Biochemical J.*, 63, 39(1956).

4-甲基伞形酰-β-葡糖苷酸 Ⅱ-2(2)-0043

4-Methylumbelliferyl-β-glucuronide

别名 4-Methyl-2-OXO-1,2-benzopyran-7-yl β-D-glucosiduronic acid

分子式 $C_{16}H_{16}O_9 \cdot 0.5H_2O$ **分子量** 361.30

理化性质 无色针状结晶。

理化参数 熔点139～140℃（分解）。$C_{16}H_{16}O_9 \cdot 3.5H_2O$ $[\alpha]_D^{25} - 105°(C = 0.25$，水)。

制备方法[1] 4-甲基伞形酮，熔点 181～183°（B.D.H.商品）黄色。纸层析显示它无荧光杂质。不过，可按伞形酮方法纯化如下：4.5g溶于10mL吡啶中，在冷却下小心加入氯磺酸（3g）在吡啶（10mL）的溶液。混合物在室温保持24小时。然后加入水（100mL），接着加稍许过量的碳酸氢钾。所形成的沉淀过滤收集，溶于最少量的热水（活性炭）中，溶液过滤。冷却后，4-甲基伞形酮硫酸酯钾盐（$C_{10}H_7O_6SK$，K13.1，S10.9）分离出来，从80%(v/v)含水乙醇中重结晶，呈无色针状。产量约2g。此盐用0.3mol/L盐酸短时间水解（10分钟），冷却后得纯的无色针状甲基伞形酮，熔点185～186℃。

2只兔子通过胃管给每只2.5g的（口服剂量0.2g/kg）悬浮于水中的4-甲基伞形酮。收集以后24小时尿。非还原性、微碱性尿（300mL）照Kamil等[2]用乙酸铅方法操作，至通硫化氢以除去碱式乙酸铅中的铅。硫化铅的滤液（400～500mL）在0℃保存过夜，4-甲基伞形酰-β-葡糖苷酸分离出来（2.3g）。母液真空浓缩至小体积可进一步得0.24g（产率：剂量的20～25%）。化合物从水中重结晶2次，形成含水的无色针状物，熔点100～105℃收缩，139～141℃（分解）。$[\alpha]_D^{25} - 105°(C = 0.25$，水)

$C_{16}H_{16}O_9 \cdot 3.5H_2O$计算含量 C 46.3 H 5.6

在110℃长时间加热，化合物不能变成无水物。它的组成约为0.5结晶水，熔点139～140℃(分解)。以下列的分子式$C_{16}H_{16}O_9 \cdot 0.5H_2O$计算含量为：C53.2 H4.7。

用途 用作β-D-葡糖苷酸酶的荧光底物。

贮存 －20℃。

参 考 文 献

〔1〕 Mead J. A. R., Smith J. N. and Williams R. T.: *Biochem. J.*, 61, 569(1955).

〔2〕 Kamil, I. A, Smith, J. N. and Williams, R. T.: *Biochem. J.* 50, 235(1951).

4-甲基伞形酰-4-胍基苯甲酸盐酸盐　　Ⅱ-2(2)-0044

4-Methylumbelliferyl-4-guanidinobenzoate hydrochloride

别名 MUGB；4-Guanidinobenzoic acid 4-methylumbelliferyl ester hydrochloride

分子式 $C_{18}H_{15}N_3O_4 \cdot HCl$　　**分子量** 373.80

理化参数 熔点219～221℃。

制备方法[1] 胍基苯甲酸盐酸盐（1.07g），4-甲基伞形酮(0.88g) 和*N*,*N*′-二环己基碳二亚胺（1.08g）溶于吡啶（7.5mL）和*N*,*N*-二甲基甲酰胺（7.5mL）混合液中，溶液放置过夜。*N*,*N*′-二环己基尿素收集后，用吡啶（5mL）和二甲基甲酰胺（5mL）混合液洗涤，合并滤洗液，减压蒸发至干，加入0.1mol/L盐酸（25mL）。浆状物用乙酸乙酯(3×25mL)抽提，离心分离。从水相过滤收集产物（59%）。五氧化二磷真空干燥后，先从乙酸-乙酸中重结晶，再从2-甲基丁-2-醇-乙醚中重结晶。

		C	H	N	Cl
$C_{18}H_{16}ClN_3O_4 \cdot H_2O$	计算含量	55.2	4.6	10.7	9.0
	实测	55.6	4.4	11.1	9.3

用途 用作α-和β-胰蛋白酶、凝血酶、X_a因子等的荧光底物。

贮存 －20℃。

参 考 文 献

〔1〕 Jameson G. W., Roberts D. V., Adams R. W., Kyle W. S. A. and Elmore D. T.: *Biochem. J.*, 131, 107(1973).

4-甲基伞形酰硫酸钾盐　Ⅱ-2(2)-0045

4-Methylumbelliferyl sulfate potassium salt

别名　MUS

分子式　$C_{10}H_7KO_6S$　**分子量**　294.32

理化性质　在水或0.2mol/L乙酸钠缓冲液（pH5.4）中的溶解度约为20mmol，需要加温至37℃。薄层层析（硅胶G）正丁醇-乙醇-水（4∶1∶5，体积比），单斑，R_f0.6，而4-甲基伞形酮的R_f为0.9。

没有缓冲液的4-甲基伞形酰硫酸钾盐溶液在－20℃数月内稳定。

制备方法[1]　4-甲基伞形酮（MU）（10g）溶于无水吡啶（20mL)中。将氯磺酰（10g）搅拌和冷却下慢慢地加到另一份无水吡啶（30mL）中，加完后糊状反应混合物加温使成溶液。吡啶氯磺酸溶液冷却至开始的沉淀出现，一次加入MU溶液。混合物放置过夜后，用水（200mL）稀释，并用碳酸氢钾使成碱性。4-甲基伞形酰硫酸钾盐沉淀，收集，并从沸水（活性炭）中结晶。

提纯方法　把4-甲基伞形酰硫酸钾盐结晶溶于最小量的沸水中，并加入10倍过量的乙醇（这步骤对4-甲基伞形酰硫酸钾盐的沉淀有利而使MU溶解，冷却，过滤。重复上述步骤直至MU/MUS的荧光比在pH10时，为4000或更高。大约需2或3次结晶。

$C_{10}H_7KO_6S$计算含量	C 40.9	H 2.4	S 10.9
实测	40.9	2.4	10.7

用途　用作测定芳基硫酰酯酶的荧光底物。

贮存　－20℃。

参 考 文 献

〔1〕 Sherman W. R., and Stanfield E. F.: *Biochem. J.* 102, 905(1967).

4-甲基伞形酸对-(*N*,*N*,*N*-三甲铵基）肉桂酸氯化物　Ⅱ-2(2)-0046

4-Methylumbelliferyl *p*-(*N*,*N*,*N*-trimethylammonium) cinnamate chloride

别名　MUTAC

分子式　$C_{22}H_{22}ClNO_4 \cdot H_2O$　**分子量**　408.87

理化性质　淡绿色粉末。

元素含量$C_{63.2}$ $H_{5.8}$ $N_{3.4}$ $Cl_{8.5}$

理化参数　熔点204～206℃。

制备原理

p-(*N*,*N*,*N*-三甲铵基）肉桂酰氯化物＋4-甲基伞形酮⟶4-甲基伞形酰对-(*N*,*N*,*N*-三甲铵基）肉桂酸氯化物

制备方法[1]　对（*N*,*N*,*N*-三甲铵基）肉桂酸碘化物（2.4g）在水中上 Bio-Rad AG1-X4

(100～200目）柱，OH型。柱用甲醇洗脱，洗脱液减压浓缩，用2mol/L盐酸酸化，减压蒸发至干。所得盐（1.4g）从甲醇-乙醚中重结晶，其熔点为198～200℃。不含碘。

$C_{12}H_{16}ClNO_2$计算含量　C 59.6　H 6.7　N5.8

后来制得各批熔点均为234～237℃，几乎不溶于三氯甲烷-二氯甲烷（1:1，*v/v*）。熔点较低的产品部分溶解于上述溶液。二者都有相同的红外和质子磁共振光谱和相同的元素组成。

对（*N*,*N*,*N*-三甲铵基）肉桂酸氯化物（0.8g）溶于新蒸的氯化亚砜（25mL）中，放置12小时。溶液在室温减压蒸发至干，残留物溶于干燥的乙腈（20mL）中（Ⅰ）。溶液(4-甲基伞形酮0.59g和正三丁胺0.62g在干燥乙腈20mL中）分四份在0℃搅拌加入（Ⅰ）。立即开始沉淀。当反应完全，加入干燥的乙醚（50mL）。收集沉淀（1.1g），在砂芯漏斗上用水（10mL）捣成浆，抽滤干，依次用丙酮和乙醚洗涤。一部分的酯氯化物（0.2g）振摇溶于水（5mL）中并加入丙酮（50mL）和足够量的乙醚使结晶（MUTAC）熔点为204～206℃。

另外，还可采用混合酸酐法可以把熔点为198～200℃的*p*-(*N*,*N*,*N*-三甲铵基）肉桂酸氯化物和4-甲基伞形酮和氯甲酸乙酯在三氯甲烷与二氯甲烷的混合液中合成产品，产物与上述方法制得者相同。但此方法不能用于熔点为234～237℃的*p*-(*N*,*N*,*N*-三甲铵基)肉桂酸氯化物，因为它在三氯甲烷-二氯甲烷中的溶解度太低，反应不能进行到底。

用途　作为α-胰凝乳蛋白酶测定荧光滴定剂。

贮存　-20℃。

参 考 文 献

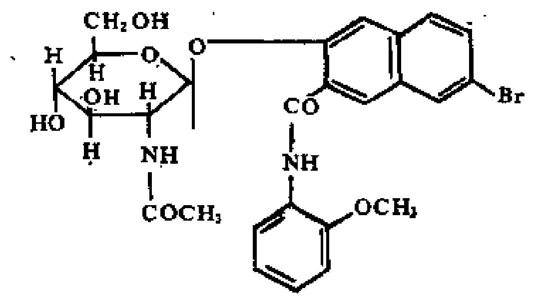
〔1〕 Jameson G. W., Roberts D. V., Adams R. W., Kyle W. S. A. and Elmore D. T.: *Biochem. J.* 131, 107(1973).

萘酚AS-BI *N*-乙酰-β-氨基葡糖苷　　Ⅱ-2(2)-0047

Naphthol AS-BI *N*-acetyl-β-glucosaminide

别名　Naphthol AS-BI 2-acetamido-2-deoxy-β-D-glucopyranoside

结构式



分子式　$C_{26}H_{27}BrN_2O_8$　　**分子量**　575.41

理化性质　几乎不溶于水。溶于乙二醇甲醚，用作组织化学底物时的最高浓度为0.5 mmol/L。也溶于*N*,*N*-二甲基甲酰胺、丙二醇、二甲亚砜等。

理化参数　熔点195～196℃。$[\alpha]_D^{23}-45°$(C=0.30，吡啶)。

制备方法[1]　4.46g(12mmol) 萘酚AS-BI和3.65g (10mmol) 乙酰氯代氨基葡糖在200mL冷丙酮中，用50mL 1.6%氢氧化钾处理。反应混合液置20～25℃中，18小时。

过滤后，室温下真空蒸发丙酮，产物溶于200mL三氯甲烷中。三氯甲烷层用相继3次冰冻的2mol/L氢氧化钾抽提，每次100mL，用冰冷水洗涤，用无水硫酸钠干燥，并蒸发至干。

残留物溶于100mL干燥甲醇中，在冰盐浴中冷却，并通入至溶液中一相当快速的干燥氨气流45分钟。溶液置室温保持18小时，并在同一温度蒸发至干。再加100mL甲醇至残留物中，真空蒸发。所得粗产物用300mL乙酸乙酯（100mL×3）洗涤，再用100mL丙酮洗涤。产量2.5g，产率43%，熔点189～191℃。从甲醇-水（1:1，*v/v*）中重结晶2次，第一次可加活性碳脱色，产物的熔点195～196℃。$[\alpha]_{D}^{25}-45°$(C=0.30，吡啶)。

$C_{23}H_{27}BrN_2O_8$(575.41)计算含量 C 54.27　H4.73　N4.87

实测　54.36　4.49　4.85

贮存　-20℃保存。

参 考 文 献

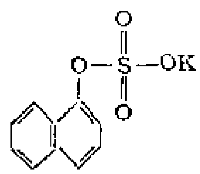
〔1〕 Hayashi M., J.: *Histochem. Cytochem.*, 13, 355(1965).

硫酸-α-萘酯钾盐　　Ⅱ-2(2)-0048

α-Naphthyl sulfate potassium salt

别名　1-Naphthyl sulfate potassium salt; Potassium 1-naphthylsulfate

结构式



分子式　$C_{10}H_7KO_4S$　　**分子量**　262.33

制备方法[1]　采用 Feigenbaum and Neuberg[2] 方法，在反应中以二甲基苯胺作为有机碱。钾盐可按Barton and Young[3]法把它转变为对甲苯胺盐而提纯（重结晶），并把它再转变回钾盐。产物对游离苯酚和无机硫酸盐试验呈阴性。经1mol/L盐酸在沸水浴加热1分钟后，则呈阳性。测得S含量为12.4%。$C_{10}H_7KO_4S$(262.33) 计算含S量12.2%。

用途　用于芳基硫酸酯酶荧光测定的底物。

贮存　-20℃。

参 考 文 献

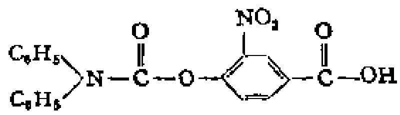
〔1〕 Whitehead J. E. M., Morrison A. R. and Young L.: *Biochem. J.*, 51, 587, (1952).
〔2〕 Feigenbaum, J. and Neuberg, C. A. : *J. Am. Chem. Soc.*, 63, 3529(1941).
〔3〕 Barton, A. D. and Young, C.: *J. Am. Chem. Soc.*, 65, 294(1943).

2-硝基-4-酸苯基-N,N-二苯基氨基甲酸　　Ⅱ-2(2)-0049

2-Nitro-4-carboxyphenyl-*N*,*N*-diphenylcarhamate

别名　NCDC

结构式

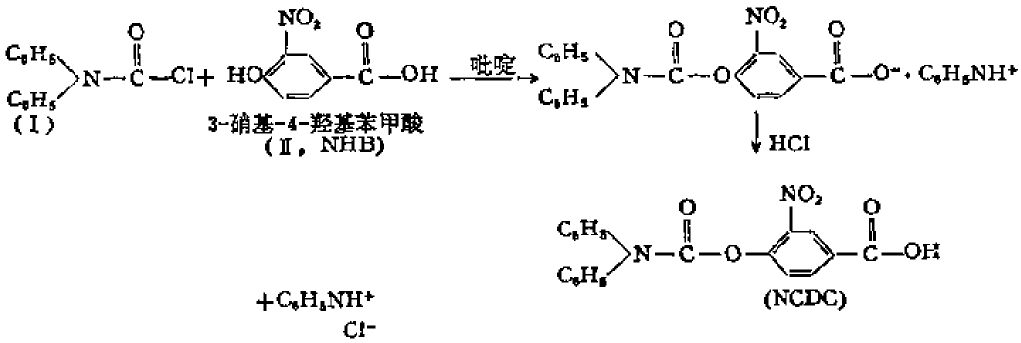


分子式 $C_{20}H_{14}N_2O_6$　　　　**分子量** 378.33

理化性质 白色结晶。

理化参数 熔点204～205℃（未校正）。

制备方法[1]



二苯氨基甲酰氯（Ⅰ）需经乙醇重结晶3次，熔点85°。溶于丙酮和异丙醇中加热，蒸馏除去溶剂后可回收纯品。

3-硝基-4-羟基苯甲酸（Ⅱ）2.2g(12mmol) 溶于32mL干燥吡啶中。在搅拌下加入2.8g (12mmol)（Ⅰ），得一清的溶液。5分钟后开始有结晶形成。搅拌4小时后，混合液置冰浴内冷却，沉淀过滤收集，并用石油醚洗涤；产量4.05g。从甲醇中重结晶；产量3.15g。熔点187℃（未校正）。

分析结果表明这产物是2-硝基-4-羧苯基-*N*,*N*-二苯基氨基甲酸的吡啶盐。$C_{25}H_{19}N_3O_6$ (457.3)

提纯方法 上述产物悬浮于25mL乙醇中，加热使成溶液，用4mol/L盐酸（约1.5mL）调pH至1～2(pH试纸)。加入30mL水产生白色沉淀为NCDC；产量2.8g。从甲醇-水中重结晶也并不改变其熔点。

$C_{20}H_{14}N_2O_6$(378.33)计算含量	C 63.48	H 3.72	N 7.40
实测	63.27	3.79	7.29

用途 用作胰凝乳蛋白酶的专一性发色抑制剂，可用以测定胰凝乳蛋白酶，释放出3-硝基-4-羟基苯甲酸。

贮存 室温。

参 考 文 献

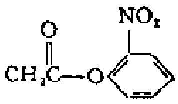
〔1〕 Erlanger B. F. and Edel F.: *Biochemistry*., 3, 346(1964).

乙酸邻硝基苯酯　　　　Ⅱ-2(2)-0050

o-Nitrophenyl acetate

别名 2-Nitrophenyl acetate

结构式



分子式 $C_8H_7NO_4$ **分子量** 181.15

理化性质 淡黄色结晶。

理化参数 熔点39~41℃。沸点141℃(146Pa)，闪点>112℃。

制备方法[1] 将适量的邻硝基苯酚和过量的乙酸酐回流，然后蒸馏除去过量乙酸酐。

备注 产物标准溶液的制备：因为它在水中会水解，故不能用水配制。先配成1mol/L溶液在二氧六环中，使用前用水稀释1:2500倍，0.4mmol/L二氧六环的存在对酶并不产生任何抑制作用。

参 考 文 献

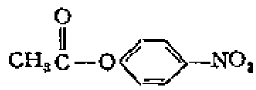
〔1〕 Bergmann F., Rimon S. and Segal R.: *Biochem. J.*, 68, 493(1958).

乙酸对硝基苯酯 Ⅱ-2(2)-0051

p-Nitropheyl acetate

别名 PNPA; 4-Nitrophenyl acetate

结构式



分子式 $C_8H_7NO_4$ **分子量** 181.15

理化性质 类白色结晶。

理化参数 熔点80.0℃。

制备方法[1] 加入化学计算量的乙酰氯（溶于三氯甲烷）至对硝基苯酚钠在二氧六环的悬浮液中。所形成的氯化钠过滤除去，溶剂蒸发，乙酸对硝基苯酯从三氯甲烷-已烷中重结晶。

用途 测定酯酶、脂肪酶和碳酸酐酶的底物；是枯草杆菌蛋白酶和硫枯草杆菌蛋白酶的非专一底物。

贮存 -20℃。

参 考 文 献

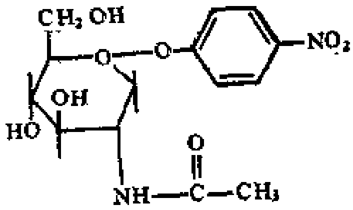
〔1〕 Peslmann G. E.: "Metheds in Enzymology", Vol. XIX, Academic Press, New York and London, 17, 1970.

对硝基苯-*N*-乙酰-β-D-氨基葡糖苷 Ⅱ-2(2)-0052

p-Nitrophenyl-*N*-acetyl-*β*-D-glucosaminide

别名 *p*-Nitrophenyl-2-acetamido-2-deoxy-*β*-D-glucopyranoside

结构式



分子式 $C_{14}H_{18}N_2O_8$ **分子量** 342.31

理化参数 熔点210～212℃。$[\alpha]_D^{25}-15°\pm2°$($C=0.5$，水)。

制备方法[1] D-盐酸氨基葡糖（Ⅰ）乙酰产生五乙酰氨基葡糖，不必进行分离再转换成1-氯-1-脱氧2,3,4,6-四乙酰-α-D-氨基葡糖（Ⅱ）。Ⅱ在含水丙酮中与对硝基苯酚的钠盐缩合，所形成的四乙酸盐（Ⅲ）在甲醇钠存在下，去o-乙酰化产生对硝基苯-N-乙酰-β-D-氨基葡糖苷。

1．乙酰氯代氨基葡糖（Ⅱ）的制备 干燥、粉末状氨基葡糖盐酸盐（30.0g）和无水乙酸钠（15.0g）悬浮于乙酸酐（300mL）中，在蒸气浴上连续搅拌加热2小时（用1L圆底烧瓶配有搅棒，冷凝管和氯化钙管)。黄色反应混合液冷却，在0～5℃溶液用干燥氯化氢饱和(反应混合液能吸收120g干氯化氢)。瓶子塞紧放室温48小时。加入三氯甲烷（400mL），溶液小心倒进含1L的冰水的烧杯。三氯甲烷层用冷、饱和碳酸氢钠溶液抽提直至二氧化碳停止放出为止（3～4次抽提)；经水抽提后，淡黄色三氯甲烷溶液分离，和无水硫酸镁（约5g）和活性炭（约5g）振摇1小时，过滤，无色滤液在45℃以下减压蒸发至糖浆状，稍加干乙酸即能结晶。残留物（Ⅱ）产量25～30g。熔点124～126℃（分解)，$[\alpha]_D^{25}+113°$（$C=1$,三氯甲烷)，置干燥器中16小时，不必进一步纯化即可用。

2．对硝基苯2,3,4,6-四乙酰-β-D-氨基葡糖苷（Ⅲ） Ⅱ(25g，68.5mmol）和对硝基苯酚（19g，138mmol）和丙酮（250mL）振摇5～10分钟；然后，加入1mol/L氢氧化钠（138mL)，混合液振摇直至溶液完全混合（2～3分钟)。溶液置5℃16小时，收集结晶，用水洗涤直至洗涤液为无色，干提得（Ⅲ)，12～13g。熔点236～239℃（分解)。$[\alpha]_D^{25}-47°$($C=0.5$，吡啶)，不需再纯化即可用于下一步。

3．对硝基苯N-乙酰-β-D-氨基葡糖苷（Ⅳ） Ⅲ(10g)悬浮于干甲醇（250mL）中并加混至37℃。加入甲醇钠（10mL)〔小心将100mL冷的无水甲醇中，加入2.3g新鲜切的钠（置配有氯化钙管的瓶内)〕，混合物振摇直至完全溶解（约5分钟)。去O-乙酰产物的分离在5分钟过后开始，混合物置5℃16小时。收集固体，滤液减压蒸发。合并固体用沸水重结晶（1g/30～35mL热水)，快速过滤热溶液。冷至室混后，收集固体，悬浮于丙酮(250mL）中并在室温用磁力搅棒搅拌16小时，以除去痕量残留的对硝基苯酚。收集固体并干燥，得6.5g对硝基苯N-乙酰-β-D-氨基葡糖苷（Ⅳ)。

产物的性质及纯度：元素分析，纸层析，和吸收光谱可作为纯度的准则。糖苷的溶解度在20～22℃时为0.023mol/L。碱性溶液会遭受光解作用。糖苷能用于制备合成抗原。

用途 用作N-乙酰-β-D-氨基葡糖苷酶的底物。

贮存 -20℃。

参 考 文 献

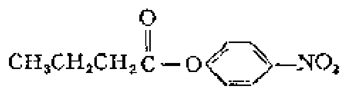
〔1〕 Brown G. B.: "Biochemical Preparations", Vol 10, John Wiley and Sons, Inc., New York. London. Sydney, 118～121, 1963.

正丁酸对硝基苯酯 Ⅱ-2(2)-0053

p-Nitrophenyl *n*-butyrate

别名 Butyric acid 4-nitrophenyl ester; 4-Nitrophenyl butyrate

结构式



分子式 $C_{10}H_{11}NO_4$ **分子量** 209.21

理化性质 棕色油状液体。保存于0～4℃。1mL约1.20g。

正丁酸对硝基苯酯在4℃以上不能结晶，是棕色油状液体。在水中溶解度(25℃)0.240g/100g。酯中带有游离对硝基苯酚量2.89g/100g。该产物水解后产生的对硝基苯酚：计算量71.3g/100g，分析结果68.0g。

制备方法[1] 按Spasov[2]方法。对硝基苯酚，13.9g(0.1mol)和苯(30g)，镁条1.2g在一圆底烧瓶中混合，并加入0.12mol正丁酰氯。混合物在蒸气浴上回流1小时，然后冷却。加入约150mL乙醚，混合物移入一分液漏斗内，依次用水、碳酸氢钠水饱和溶液、水洗涤，洗涤后的水溶液弃去。苯-乙醚混合物用无水硫酸钠干燥，溶剂在室温蒸发，得液体粗产品。

用约50mL水洗涤粗产品三遍，离心除去水。最后加无水硫酸钠脱水。溶剂蒸发后得产品。

贮存 －20℃。

参 考 文 献

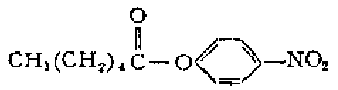
〔1〕 Huggins C. and Lapides J.: J. B. C., 170, 467(1947).
〔2〕 Spasov A.: *Ann. University Sofia, Ⅱ. Faculté phys-math.*, 35, 289(1938～39).

正己酸对硝基苯酯 Ⅱ-2(2)-0054

p-Nitrophenyl caproate

别名 *n*-Hexanoic acid 4-nitrophenyl ester

结构式



分子式 $C_{12}H_{15}NO_4$ **分子量** 237.25

理化性质 黄色液色。

理化参数 沸点174～5℃(800Pa)。

制备方法[1,2] 13.9g对硝基苯酚，0.12mol己酰氯，0.12g镁带，30g苯和少量结晶碘回流4小时，冷却，加入150mL乙醚，依次用水、饱和碳酸氢钠和水洗涤，有机层用无水硫酸钠干燥，脱色，真空蒸发，己酸对硝基苯酯蒸馏纯化。

贮存 －20℃。

参 考 文 献

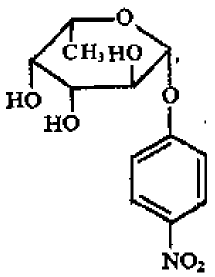
〔1〕 Kreisky S.; *Acta Chem. Scand.*, 11, 913(1957).

〔2〕 Kreisky S.; *Chem. Abstr.*, 52 14565 a (1958).

对硝基苯-β-L-吡喃岩藻糖苷 Ⅱ-2(2)-0055

p-Nitrophenyl-β-L-fucopyranoside

结构式



分子式 $C_{12}H_{15}NO_7$ **分子量** 285.25

理化性质 无色针状结晶。

理化参数 熔点187～189℃。$[\alpha]_D^{20}$ ＋100°(*C*＝1，乙醇)，＋78°(*C*＝0.8，丙酮)。

制备方法[1]

1．对硝基苯-三-*O*-乙酰岩藻糖的制备 14.6g胶状乙酰溴代岩藻糖在104mL丙酮和6.9g对硝基苯酚，69mL mol/L氢氧化钠在室温中温合5小时。除去丙酮后，残留物倒入至750mL水中，总共用600mL三氯甲烷抽提。三氯甲烷抽温液依次用水、0.1mol/L氢氧化钠、水洗涤，冰冷三氯甲烷相，并在无水氯化钙上干燥。除去三氯甲烷后得6.8g无色玻璃状结晶，从乙醇中重结晶得细针状对硝基苯-三-*O*-乙酰-β-L-岩藻糖苷，产量2.25g。熔点164～6℃。$[\alpha]_D^{20}$ ＋1.5°(*C*＝1.5，三氯甲烷或丙酮)。

$C_{18}H_{21}NO_{10}$ 计算含量	C52.6	H5.1	N3.4
实测	53.2	5.3	3.5

2．对硝基苯-β-L-岩藻糖苷的制备 三乙酸盐（0.57g）溶于甲醇（9mL）中，和0.1mol/L甲醇钠在甲醇（1mL）中回流45分钟。当此溶液蒸发至干后从乙醇中结晶，岩藻糖苷以无色针状结晶分离出来。得0.28g，产率71%。

$C_{12}H_{15}NO_7$(285.25) 计算含量	C50.5	H5.3	N4.9
实测	50.3	5.6	5.0

经酸水解后，岩藻糖苷和碱产生一黄色。

用途 用作β-岩藻糖苷酶的底物。

贮存 －20℃。

参考文献

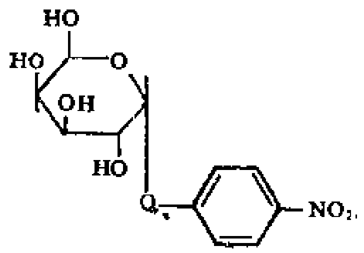
〔1〕 Levy G. A. and Mc Allan A.; *Biochem. J.*, 80 433(1961).

4-硝基苯-α-D-吡喃半乳糖苷　　Ⅱ-2(2)-0056

4-Nitrophenyl-α-D-galactopyranoside

别名　α-NPG

结构式



分子式　$C_{12}H_{15}NO_8$　　**分子量**　301.26

理化性质　无色固体。易溶于甲醇和丙酮；适度溶于水和乙酸乙酯；难溶于苯和冰乙酸；不溶于三氯甲烷和石油醚。它在空气中不稳定，在热时还原Fehling溶液。

理化参数[2]　在空气中干燥时，对硝基苯-α-D-半乳糖苷（Ⅰ）保留1分子结晶水。$[\alpha]_D^{23}$ +233°(水中)，经65℃/2×10³Pa干燥，$[\alpha]_D^{23}$ +248°(水中)。

当逐渐在熔点测定器上加热时，Ⅰ·H_2O的熔点为83～85℃，在约94℃时重新固化，在146～149℃重熔。经65℃/2×10³Pa干燥后，（Ⅰ）的熔点现象同上。但在100℃干燥后，（Ⅰ）的熔点136～140℃，没有初步熔点。（Ⅰ）有双晶现象。当保存于封管内，Ⅰ·H_2O和经100℃干燥者保持无色。在65℃干燥的保存后转黄色。

制备方法[1,2]

1. 四乙酰-对硝基苯-α-D-半乳糖苷的制备　乙酰溴代半乳糖（4.1g，0.01mol），对硝基苯酚（3.48g，0.025mol）和$Hg(CN)_2$(1.3g，0.005mol）进行反应。经过两次甲醇重结晶(第1次从5mL，第2次从3.5mL)，产量1.5g，产率32%。熔点129～130℃。$[\alpha]_D^{21}$ +275°(三氯甲烷)

$C_{20}H_{23}NO_{12}$(469.39) 计算含量	C51.17	H4.94	N2.98
实测	50.97	4.91	2.98

化合物极易溶于三氯甲烷和乙酸乙酯；易溶于乙醚、丙酮、苯和冰乙酸；适度溶于冷甲醇；不溶于水和石油醚。

2. 对硝基苯-α-D-半乳糖苷的制备　四乙酰化合物(4.38g)在50mL绝对甲醇和1.5mL 0.1mol/L甲醇钠溶液中回流加热4分钟，冷却溶液过滤，蒸发除去溶剂，短时间通过摩擦后，得到结晶残留物经干燥后，从15mL水中重结晶，产率43%。

$C_{12}H_{15}NO_8$(301.26) 计算含量	C47.83	H5.02	N4.65
实测	47.40	5.23	4.75

用途　用作α-D-半乳糖苷酶的底物。

贮存　-20℃。

参 考 文 献

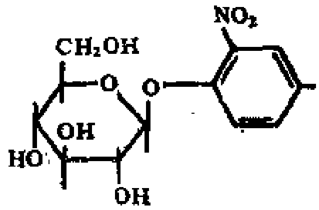
〔1〕 Helferich B. and Jung K. H.: *Ann.* 589, 77(1954).
〔2〕 Helferich B. and Jung K. H.: *Ann.* 595, 242(1955).

邻硝基苯-β-D-吡喃半乳糖苷 Ⅱ-2(2)-0057

o-Nitrophenyl-*β*-D-galactopyranoside

别名 ONPG; 2-Nitrophenyl-*β*-D-galactopyranoside; *o*-Nitrophenyl-*β*-D-galactoside

结构式



分子式 $C_{12}H_{15}NO_8$ **分子量** 301.26

理化性质 无色针状结晶。溶于水、甲醇。

理化参数 熔点194～197℃(分解)。$[\alpha]_D^{20}$ −51.9(*C*=1.0, 水)。

制备方法[1]

1. 四乙酰-*O*-硝基苯-*β*-D-半乳糖苷 42g邻硝基苯酚溶于氢氧化钠溶液(16.8g/420mL水)中，并加入88g四乙酰-溴代*α*-D-半乳糖在620mL丙酮的溶液。室温放置5小时后，减压蒸馏除去溶剂。产物以长针状出现，会引起相当地碰撞。过滤，继续浓缩直至不再有结晶形成。从95%乙醇中重结晶，得56g。熔点172～172.5℃。$[\alpha]_D^{18}$ +69.9°(*C*=1.9, 三氯甲烷)。

$C_{20}H_{23}NO_{12}$ 计算含量 C 51.1 H 4.9
实测 51.0 4.96

2. 邻硝基苯-*β*-D-半乳糖苷 1g上述产物悬浮于50mL绝对甲醇中，加入1mL0.2mol/L甲醇钡。混合物置冰箱内，并不时振摇。四小时后得一清溶液，不久即有长发似的针状结晶分离出来。24小时后，反应混合物减压浓缩，得定量产率的邻硝基苯-*β*-D-半乳糖苷。经绝对乙醇重结晶2次后，熔点193～194℃。$[\alpha]_D^{18}$ −51.9(*C*=1.0, 水)。

$C_{12}H_{15}N$(301.26) 计算含量 C 47.8 H 5.02
实测 48.1 5.20

用途 用作*β*-D-半乳糖苷酶的底物。

贮存 −20℃。

参 考 文 献

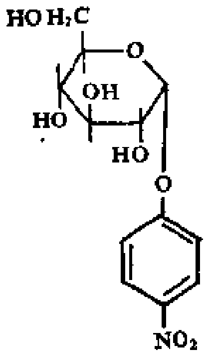
〔1〕 Seidman M. and Link K. P.: *J. Am. Chem. Soc.*, 72, 4324(1950).

对硝基苯-α-D-吡喃葡糖苷 Ⅱ-2(2)-0058

p-Nitrophenyl-*α*-D-glucopyranoside

别名 *α*-PNPG; 4-Nitrophenyl-*α*-D-glucopyranoside

结构式



分子式 $C_{12}H_{15}NO_8$ **分子量** 301.26

理化性质 多边形棱状晶体。溶于水。

理化参数 熔点216～217℃。$[\alpha]_D^{20}$ +217±3°(C=0.5～1，水)。

制备方法[1]

1. 四乙酰-α-对硝基苯-D-葡糖苷(Ⅰ) 48g对硝基苯酚和30gα-五乙酰葡糖在7g氯化锌(熔融的，溶于22mL乙酸和乙酸酐(95:5)中125℃催化下缩合30分钟。混合异构体的结晶产物总产率84%。从乙醇中重结晶可得α-型，分离出来；母液产率18%β-型。纯的四乙酰-α-对硝基苯-D-葡糖苷的熔点113℃。$[\alpha]_D$+200°(C=2，三氯甲烷)，几乎无色，针形棱柱晶体。产率60%。

$C_{20}H_{23}NO_{12}$	计算含量	C 51.15	H 4.94	N 2.98
	实测	51.37	5.08	3.04

2. 去乙酰基 用Ⅰ去乙酰基后，产生α-对硝基苯-D-葡糖苷，从水中结晶，呈多边形棱状晶体，无水物$[\alpha]$+215°(C=1，水)，熔点216℃。Goebel等[2]报导$[\alpha]_D^{23}$ +227.9°(甲醇)，熔点216～217℃。Aizawa[3]报导$[\alpha]_D^{20}$ +215°(水)，熔点210℃。

用途 用作α-D-葡糖苷酶的底物。

贮存 -20℃。

参 考 文 献

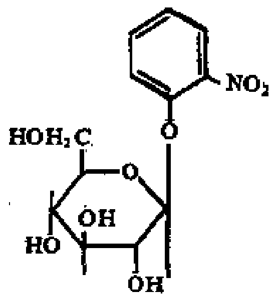
〔1〕 Montgomery, E. M., Richtmeyer, N. K. and Hudson, C. S.: *J. Am. Chem. Soc.*, 64,690(1942).
〔2〕 Goebel, W. F., Babers, F. H. and Avery, O. T.: *J. Exptl. Med.*, 55,761(1932).
〔3〕 Aizawa, K.: *J. Biochem.* (*Japan*),30,89(1939).

邻硝基苯-β-D-吡喃葡糖苷 Ⅱ-2(2)-0059

o-Nitrophenyl-β-D-glucopyranoside

别名 2-Nitrophenyl-β-D-glucopyranoside

结构式



分子式 $C_{12}H_{15}NO_8$　　**分子量** 301.26

理化性质 无色结晶。具吸湿性，溶于水、乙醇、甲醇、丙酮、乙酸和氢氧化钾；不溶于乙醚和三氯甲烷。

理化参数 熔点130～131℃。$[\alpha]_D^{14}$ －82.72°(C=0.867，水)；$[\alpha]_{546}^{20}$－123±2°(C=2，水)。

制备方法[1]

1. 四乙酰邻硝基苯-β-D-葡糖苷　3g 2-硝基苯酚溶于氢氧化钠溶液（1.2g/30mL水）中，并和6.3g乙酰溴代葡糖溶于45mL丙酮的溶液混合。在此情况下，温度没有增高，结果得一均匀的混合物。放置5小时后，真空蒸发除去丙酮至结晶出现。浓缩物用300mL水混合，有很多结晶分离而出，抽滤收集，用水洗涤至黄颜色的消失。从热乙醇中重结晶，得无色、长针状四乙酰邻硝基苯-β-D-葡糖苷。熔点158～159℃。难溶于乙醇、甲醇，溶于氯、苯酚、三氯甲烷和丙酮，不溶于水、乙酮、乙酸和氢氧化钾。产率65%（以邻硝基苯酚计）。$[\alpha]_D^{18}$ ＋36.14(C=0.696，三氯甲烷)。

$C_{20}H_{23}NO_2$	计算含量	C 51.17	H 4.90	N 2.98	乙酰基4.0
	实测	50.88	4.98	2.84	4.04
		50.99	5.03	2.93	4.01

2. 邻硝基苯-β-D-葡糖苷　3g研细的上述四乙酰邻硝基苯葡糖苷粉末悬浮于225mL干燥的、新鲜蒸馏的甲醇中，并按E. Fischer的方法在冰冷下通入经过碱石灰干燥的氨气直至成完全溶液，这需要约1小时。溶液放冰中15小时，在真空35℃，1.3×10^3Pa压力下浓缩至1/3体积，并进一步在室温浓缩至结晶出现。过滤，结晶从水中重结晶，可得无色结晶产物从母液中可进一步得到结晶。产率50%（以四乙酰葡糖苷计）。

$C_{12}H_{15}NO_4+H_2O$	计算含量	C 45.14	H 5.32	H_2O 5.64
	实测	45.05	5.40	5.57
		44.91	5.47	

用途 用作β-D-葡糖苷酶的发色底物。

贮存 －20℃。

参 考 文 献

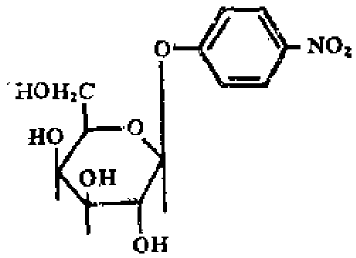
〔1〕 Glaser E. and Wulwek W.: *Biochem. Zeitschrift.*, 145, 514(1924).

对硝基苯-β-D-吡喃葡糖苷　　Ⅱ-2(2)-0060

p-Nitrophenyl-β-D-glucopyranoside

别名 4-Nitrophenyl-β-D-glucopyranoside

结构式



分子式 $C_{12}H_{15}NO_8$ **分子量** 301.26

理化性质 细针状结晶。从热水中重结晶。溶于乙醇、甲醇、水、氨和氨氧化钾；不溶于乙醚、丙酮、苯、三氯甲烷、石油醚、戊醇和苯酚。

理化参数 熔点164～166℃分解。$[\alpha]_D^{22}$ －99°(C＝0.756，水)。

制备方法[1] 同邻硝基苯-β-D-葡糖苷方法。

1．四乙酰对硝基苯-β-D-葡糖苷 为细针状结晶，熔点174～175℃。溶于乙醇、甲醇、丙酮、乙醚、三氯甲烷、苯、苯酚和氨；不溶于水、戊醇、石油醚和氢氧化钾。产率70%（以硝基苯酚计）。

$C_{20}H_{23}NO_{12}$	计算含量	C51.17	H4.90	N2.98	乙酰基4.0
	实测	50.99	5.02	2.84	4.02
		51.17	5.11	3.09	4.05

$[\alpha]_D^{18}$ －27.17°(C＝1.126，三氯甲烷)。

2．对硝基苯-β-D-吡喃葡糖苷 从热水中重结晶，呈细针状结晶。熔点164～165℃。溶于乙醇、甲醇、水、氨和氢氧化钾。产率65%（以四乙酰对硝基苯β-葡糖苷计）。

$C_{12}H_{15}NO_8+H_2O$	计算含量	C45.14	H5.32	H_2O5.64
	实测	44.91	5.36	5.37
		44.98	5.51	5.46
$C_{12}H_{15}NO_8$(301.26)	计算含量	C47.84	H4.98	N4.65
	实测	47.70	5.12	4.55
		47.73	5.19	4.64

用途 用作β-D-葡糖苷酶的底物。

贮存 －20℃

参 考 文 献

〔1〕 Glaser E. and Wulwek W.: *Biochem. Zeitschrift.*, 145,514(1924).

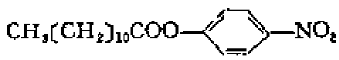
月桂酸对硝基苯酯 Ⅱ-2(2)-0061

p-Nitrophenyl laurate

别名 Dodecanoic acid 4-nitrophenyl ester;

Lauric acid-4-nitrophenyl ester

结构式



分子式 $C_{18}H_{27}NO_4$　　　　**分子量** 321.41

理化性质 类白色结晶。从乙醇中结晶。

理化参数 熔点44.5～45℃。

制备方法[1] 混合物（13.9g对硝基苯酚，0.12mol月桂酰氯，0.12g镁带，30g苯和少量结晶碘）回流4小时，冷却，加入150mL乙醚，依次用水、饱和碳酸氢钠和水洗涤，有机层用无水硫酸钠干燥，脱色，真空蒸发，月桂酸对硝基苯酯结晶。

用途 用于酯酶的底物。

贮存 -20℃。

参 考 文 献

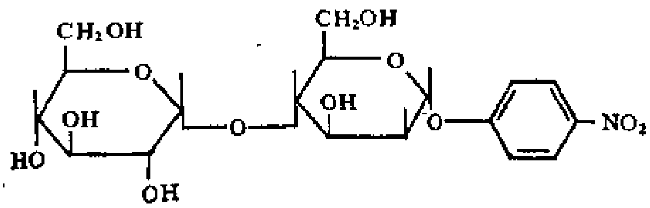
〔1〕 Kreisky S.; *Acta Chem. Scand.*, 11,913(1957); *Chem. Abstr.*, 52,14566 a(1958).

对硝基苯-α-D-麦芽糖苷　　Ⅱ-2(2)-0062

p-Nitrophenyl-*α*-D-maltoside

别名 4-Nitrophenyl-*α*-D-glucopyranosyl-(1→4)-*α*-D-glucopyranoside

结构式



分子式 $C_{18}H_{25}NO_{13}$　　　　**分子量** 463.39

理化性质 结晶。

理化参数 熔点35～8℃。$[\alpha]_D^{25}$ +46.65°(C=6，水)。

制备方法[1]

麦芽糖＋乙酸酐⟶八乙酰麦芽糖

八乙酰麦芽糖＋对硝基苯酚 $\xrightarrow{TiCl_4}$ （对硝基苯基）七乙酰麦芽糖

（对硝基苯基）七乙酰麦芽糖＋甲醇钠 $\xrightarrow{\text{甲醇}}$ 对硝基苯-*α*-D-麦芽糖＋乙酸甲酯

用途 为测定淀粉酶的适当的底物。

贮存 -20℃。

参 考 文 献

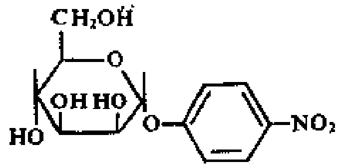
〔1〕 Jansen A. P. and Wydeveld P. G. A. B.: *Nature*., 182, 525(1958).

对硝基苯-α-D-吡喃甘露糖苷　　Ⅱ-2(2)-0063

p-Nitrophenyl-*α*-D-mannopyranoside

别名 4-Nitrophenyl-*α*-D-mannopyranoside

结构式



分子式 $C_{12}H_{15}NO_8$ **分子量** 301.25

理化性质 结晶。溶于水。

理化参数 熔点183～184℃。$[\alpha]_D^{20}$ +186±2°(C=1，水)。

制备方法[1] 甘露糖（12g）分小份用30分钟加到在冰盐浴中冷却的乙酸酐（100mL）和吡啶（130mL）的混合液中。反应混合液在连续冷却下机械搅拌4小时，并不时振摇在0℃保持2天。溶液在剧烈搅拌下，缓慢地倒入至含碎冰的水（1500mL）中。β-甘露糖五乙酸盐以糖浆状分离出来。经过连续搅拌结晶形成。过滤结晶，用水很好地洗涤；产量21g。熔点117℃。充分干燥。

对硝基苯酚（12.5g），β-甘露糖五乙酸盐（12.5g）和无水氯化锌（0.5g）在160℃油浴内机械搅拌加热30分钟。熔融后冷却至约60℃后，溶于苯（200mL）中；苯溶液用等容积的水洗2次，然后用1mol/L氢氧化钠（2～3L）洗涤直至水层几乎无色。经水洗涤后，苯溶液在氯化钙上干燥，在40℃减压蒸发至干。残留物用乙醇蒸发1或2次，溶于乙醇，活性炭处理，蒸发减至小体积，此时对硝基苯α-甘露糖苷四乙酸盐以结晶分离出来。从乙醇中重结晶得11.3g。熔点156～157℃。

四乙酸盐（5g）悬浮于无水甲醇（60mL）中，加入0.5mL0.2mol/L甲醇钠溶液。回流5分钟后，溶液减压浓缩至40mL，并冷至0℃，此时对硝基苯-α-D-吡喃甘露糖苷以结晶分离出来；得量2.7g。再以水中重结晶得纯品。

用途 用于测定α-D-甘露糖苷酶的底物。

贮存 干燥，避光保存于-20℃。

参 考 文 献

〔1〕 Neufeld E. F. and Ginsberg: "Methods in Enzymology", Vol VIII., Academic Press, New York and London, 581～582, 1966.

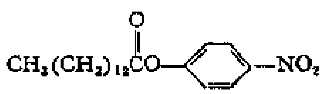
肉豆蔻酸对硝基苯酯

Ⅱ-2(2)-0064

p-Nitrophenyl myristate

别名 Tetradecanoic acid 4-nitrophenyl ester

结构式



分子式 $C_{20}H_{31}NO_4$ **分子量** 349.46

理化性质 结晶。

理化参数 熔点54.5～55℃。

制备方法[1] 13.9g对硝基苯酚，0.12mol肉豆蔻酰氯，0.12g镁带，30g苯和少量结晶碘，混合后回流4小时，冷却，加入150mL三氯甲烷，依次用水、饱和碳酸氢钠、水洗涤，有机层用硫酸钠干燥，脱色，真空蒸发，肉豆蔻酸对硝基苯酯结晶。

贮存 －20℃。

参 考 文 献

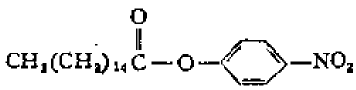
〔1〕 Kreisky S.; *Acta Chem. Scand.*, 11,913(1957); *Chem. Abstr.* 52,14565a(1958).

棕榈酸对硝基苯酯 Ⅱ-2(2)-0065

p-Nitrophenyl palmitate

别名 Palmitic acid 4-nitrophenyl ester;
Hexadecanoic acid 4-nitrophenyl esfer

结构式

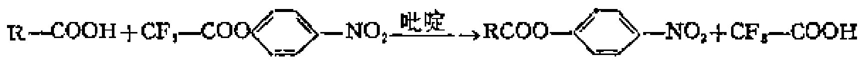


分子式 $C_{22}H_{35}NO_4$ **分子量** 377.51

理化性质 结晶。

理化参数 熔点60～3℃。

制备方法[1]



反应时间10～20分钟，反应温度室温，产率96.5%。

$C_{22}H_{35}NO_4$(377.51)	计算含量	C 69.99	H 9.35	N 3.71
	实测	70.18	9.35	3.64

用途 用作脂肪酶的底物。

贮存 －20℃。

参 考 文 献

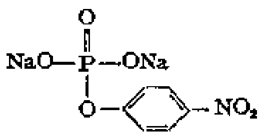
〔1〕 Sakakibara S. and Inukai N.: *Bull. Chem. Soc. Japan.*, 38,1979(1965); *Chem. Abstr.*, 64:5204b.

对硝基苯磷酸二钠盐 Ⅱ-2(2)-0066

p-Nitrophenyl phosphate disodium salt

别名 4-Nitrophenyl phosphate disodium salt; 4-NPP

结构式



分子式　$C_6H_4NO_6P\cdot Na_2$　果子量　263.07

$C_6H_4NO_6P\cdot Na_2\cdot 2H_2O$　299.10

$C_6H_4NO_6P\cdot Na_2\cdot 6H_2O$　371.17

理化性质　白色结晶。

制备方法[1]　10g 苯磷酸钠分小份加入至 10mL 冷硝酸（密度1.52）中，很好地搅拌。然后，反应物和10g冰混合，用饱和碳酸钠中和至对刚果红中性，在减压下蒸发至干。残留物用100mL热的90%乙醇抽提。抽提液冷却后，析出来的沉淀过滤除去。滤液用氢氧化钠在90%乙醇中的溶液中和到对酚酞中性。在此情况下对硝基苯磷酸二钠以无色片状结晶出现。结晶溶于20倍体积的热90%甲醇中，冷却后，加入乙醚使沉淀。产量6.8g；含2分子结晶水的对硝基苯磷酸二钠。把结晶水除去后，干燥的盐分析结晶

$PO_3(OC_6H_4NO_2)Na_2$(263.07)计算含量　P11.8

实测　11.7

用途　用作碱性磷酸酯酶和酸性磷酸酯酶的高质量底物。

贮存　−20℃。

参考文献

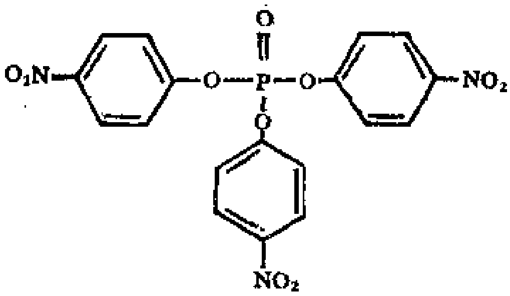
〔1〕 Ohmori Y.: *Enzymologia.*, 4, 217(1937).

三（对硝基苯）磷酸　Ⅱ-2(2)-0067

Tris(*p*-nitrophenyl) phosphate

别名　*p*-Nitrophenyl phosphate (tris); Tris (4-nitrophenyl) phosphate; phosphoric acid·tris (*P*-nitrophenyl)ester

结构式



分子式　$C_{18}H_{12}N_3O_{10}P$　**分子量**　461.28

理化性质　白色粉末。易溶于冰乙酸；不溶于冷醇、乙醚、三氯甲烷和苯。它是三个对硝基苯基联到一正磷酸上。

理化参数　熔点150～152℃。

制备方法[1]　三苯基磷酸酯以它的优良的硝化能力而出名，用冷硝酸（相对密度1.5）通过不同的处理，得到理论量的硝基化合物而无任何分解反应。它不溶于水，并以白色沉淀完全地沉淀出来，滤液中不再有磷反应。所得硝基化合物用水洗涤直至滤液不再有酸性反应为止。它形成白色粉末，难溶于醇；易溶于热的冰乙酸，并经长时间放置后以细的规则的斜棱形晶体析出来。从浓溶液中结晶像瘤一样长在一起。所有这些不同形状的产物熔点都是

155℃。

$Po(OC_6H_4NO_2)_3$计算含量 C46.85 H2.60 N9.11 O6.72

实测 47.01 2.12 9.36 6.48

用途 用作测定磷酸酯酶的底物。

贮存 -20℃。

参 考 文 献

〔1〕 Rapp M.: *Liebig's Ann. Chem.*, 224 156(1884).

丙酸对硝基苯酯 Ⅱ-2(2)-0068

p-Nitrophenyl propionate

别名 PNPP; Propionic acid 4-nitrophenyl ester

结构式



分子式 $C_9H_9NO_4$ **分子量** 195.18

理化性质 长针状白色结晶。1g溶于10ml乙醇中，澄清。

理化参数 熔点62～64℃。

制备方法[1] 13.9g(0.1mol) 对硝基苯酚，30g苯和1.2g镁带在一圆底烧瓶内混合，并加入0.12mol的丙酰氯。混合物在蒸气浴上回流1小时然后，冷却。加入约150mL乙酸乙酯，混合物移入分液漏斗中。依次用水、碳酸氢钠饱和水溶液、水洗涤。水相洗涤弃去。苯-乙醚混合物用无水硫酸钠干燥，溶剂在室温蒸发。

固体的酯从约150mL乙酸乙酯中重结晶能纯化3倍；在纯化丙酸对硝基苯酯时，粗产物溶于20mL正丁醇(45℃)；冷至室温后结晶形成。熔点62～63℃。水中溶解度(25℃)0.245g/100g H_2O，游离对硝基苯酚含量2.33g/100g酯。

用途 用于测定酯酶的底物。

贮存 -20℃。

参 考 文 献

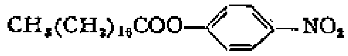
〔1〕 Huggins C. and Lapides J.: *J. Biol. Chem.*, 170, 467(1947).

硬脂酸对硝基苯脂 Ⅱ-2(2)-0069

p-Nitrophenyl stearate

别名 4-Nitrophenyl stearate; Octadecanoic acid 4-nitrophenyl ester

结构式



分子式 $C_{24}H_{39}NO_4$ **分子量** 405.56

理化性质 结晶。

理化参数 熔点66.5～67℃。

制备方法[1] 13.9g对硝基苯酚和0.12mol硬脂酰氯，0.12g镁带，30g苯和少量碘结晶回流4小时，冷却，加入150mL三氯甲烷，依次用水、饱和碳酸氢钠溶液和水洗涤，有机层用

硫酸钠干燥，脱色，真空蒸发除去溶剂。硬脂酸对硝基苯酯结晶析出。

用途 用作酯酶的底物。

贮存 －20℃。

参 考 文 献

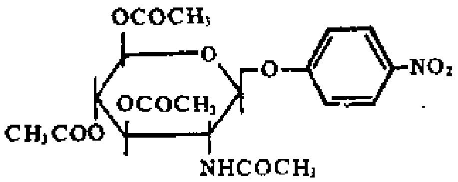
〔1〕 Kreisky S.: *Acta Chem. Scand.*, 11, 913(1958); *Chem. Abstr.* 52, 14565 a(1958).

对硝基苯-2,3,4,6-四-*O*-乙酰-β-D-氨基葡糖苷 Ⅱ-2(2)-0070

p-Nitrophenyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-*β*-D-glucosaminide

别名 *p*-Nitrophenyl-2-acetamido-2-deoxy-3,4,6-tri-*O*-acetyl glucopyranoside

结构式



分子式 $C_{20}H_{23}N_2O_{11}$ **分子量** 467.40

理化性质 结晶。

理化参数 熔点233℃。

制备方法[1] 无水乙酸钠（40g）和乙酸酐（200mL）在155～160℃油浴内回流直至大部分固体溶解。氨基葡糖盐酸盐（40g）以小量加入以维持一受控制的反应，连续加热3分钟。反应混合液倒入至冰-冷水（500mL）和三氯甲烷（200mL）中。机械搅拌下，加入固体碳酸钠直至水层成碱性。用分液漏斗分离出三氯甲烷层，水层用三氯甲烷洗涤。合并三氯甲烷抽提液，用水洗涤，在氯化钙上干燥，并在减压下除去溶剂使干燥。

干燥的五乙酸盐糖浆（74g）与对硝基苯酚（88g）和对甲苯磺酸（0.5g）在130℃熔化，并在搅拌下，维持120℃2小时。加入三氯甲烷（1200～1500mL）以溶解上述熔化物，溶液用冰冷水充分洗涤，然后用冰冷的0.1mol/L氢氧化钠（约2200mL）使水相变成深棕色。进一步用冰冷水洗涤后，三氯甲烷层在氯化钙上干燥。减压除去溶剂得一产物，从1:1乙醇-三氯甲烷重结晶后得几乎纯的对硝基苯-β-氨基葡糖四乙酸盐（8.4g）。

贮存 －20℃。

参 考 文 献

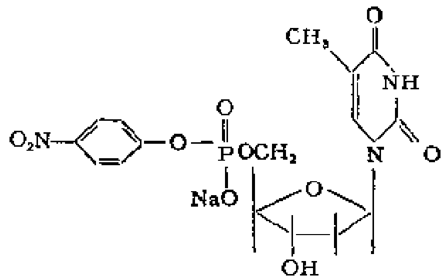
〔1〕 Neufeld E. F. and Ginsberg V.: "Methods in Enzymology", Vol. VIII, Academic Press, NewYork and Lodon, 579, 1966.

5′-对硝基苯胸苷-磷酸单钠盐 Ⅱ-2(2)-0071

p-Nitrophenyl thymidine-5′-monophosphate mono sodium salt

别名 2′-Deoxythymidine-5′-4-nitrophenyl phosphate sodium salt

结构式



分子式　$C_{16}H_{17}N_3O_{10}P \cdot Na$　分子量　465.29

$C_{16}H_{17}N_3O_{10}P \cdot Na \cdot 3H_2O$　519.34

理化性质　1mg纯化磷酸二酯酶在1小时将水解37mmol的底物。

理化参数　$\lambda_{最大}$(pH2)270nm；ε16.250

制备方法[1]　5′-胸苷一磷酸钙盐（2mmol）通过 Amberlite IR-120（吡啶型）树脂转成吡啶盐，并使干燥成胶状。胶状物溶于含三乙胺（0.28mL，2mmol）的吡啶（10mL）中。减压蒸发吡啶至干，残留物溶于无水吡啶（75mL），加入对硝基苯酚（2.78g，20mmol）和*N*, *N*′-二环己基碳二亚胺（4.12g，20mmol）。置室温黑暗处七天后，溶剂减压蒸发除去。残留物用油泵抽真空后，溶于含氢氧化钠（2ml，1mol/L）的水（25mL）中。水溶液用乙醚抽提3次，并通过IR-120(H^+型）树脂柱。酸性流出液用氢氧化钠调至pH 3.5，并反复用乙醚抽提直至抽提物在与氢氧化钠水溶液振摇时，不再产生黄色为止。蒸发至干，残留物溶于甲醇（10mL）。过滤除去少量不溶物后，加丙酮（50mL）和乙醚（50mL），得絮状白色沉淀，离心得沉淀物，用丙酮和乙醚洗涤，室温真空干燥（805mg）。

纸层析（溶剂系统：正丁醇-乙酸-水＝7:1:2，v/v）显示产物含有少量5′-胸苷-磷酸，它可通过纤维素柱（20cm×3cm直径除去），用75%异丙醇作为洗脱溶剂。产品出现在#19～#24(10-mL/份）部分，与5′-胸苷-磷酸和另一较慢的带分离开来。合并部分蒸发至干，溶于甲醇，加10倍乙醚使沉淀。在室温干燥后，产量为600mg层析纯的5′-对硝基苯胸苷一磷酸钠盐。

$C_{16}H_{17}N_3O_{10}P.Na.3H_2O$(519.34)计算含量	P	5.97
实测		6.00

用途　用作测定蛇毒磷酸二酯酶（磷酸二酯酶Ⅰ,5′-核酸外切酶）的底物。

贮存　－20℃。

参考文献

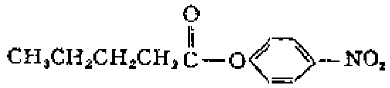
〔1〕 Razzell W. E. and Khorana H. G.; *J. Biol. Chem.*, 234, 2105(1959).

正戊酸对硝基苯酯　Ⅱ-2(2)-0072

p-Nitrophenyl *n*-valerate

别名　Pentanoic acid 4-nitrophenyl ester

结构式



分子式 $C_{11}H_{13}NO_4$ **分子量** 223.22

理化性质 黄色油状液体。在水中溶解度（25℃)0.094g/100g。

制备方法[1] 参考正丁酸对硝基苯酯（Ⅱ-2(2)-0053）的制备方法。

液体的酯用约50mL水洗涤3遍，离心除去水。最后加无水硫酸钠使完全脱水。

产物中带游离对硝基苯酚2.62g/100g产物。

酯经水解后，产生的对硝基苯酚 计算值 66.3g/100g

实测 64.4g/100g

用途 用作酯酶的底物。

贮存 －20℃。

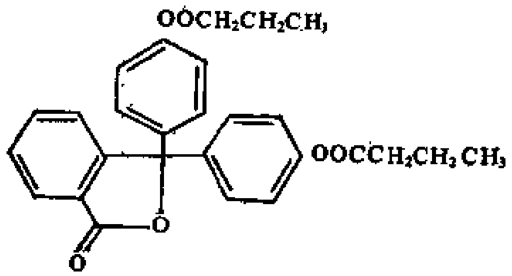
参 考 文 献

〔1〕 Huggins C. and Lapides J.: *J. Biol. Chem.*, 170, 467(1947).

二丁酸酚酞酯 Ⅱ-2(2)-0073

Phenolphthalein dibutyrate

结构式



分子式 $C_{28}H_{26}O_6$ **分子量** 458.49

理化性质 无色薄片状结晶。溶于甲醇，不溶于乙醚。

理化参数 熔点91.5～92℃。

制备方法[1] 10g氯化亚砜和6g正丁酸混合物中，在搅拌下加入10g酚酞。混合物在水浴内加热3小时，每隔15分钟剧烈摇动。浆状残留物冷却后溶于200mL乙醚中。溶液用蒸馏水（内含一些纯氯化钠）洗涤6次。溶液用无水硫酸钠干燥并过滤。滤出的硫酸钠用乙醚洗3次，乙醚在室温减压蒸发。将近无色的残留物溶于甲醇，置0℃过夜。很快结晶的粗产品经重结晶后得10g纯的二丁酸酚酞酯。

贮存 －20℃。

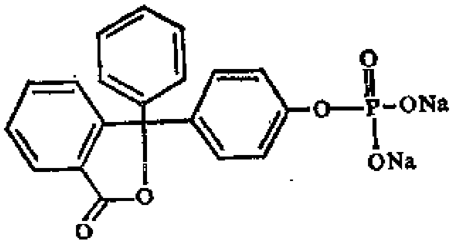
参 考 文 献

〔1〕 Purr A.: *Naturwissenschaften.*, 43, 497(1956).

二磷酸酚酞酯四钠盐 Ⅱ-2(2)-0074

Phenolphthalein diphosphate tetrasodium sat

结构式



分子式 $C_{20}H_{12}O_{10}P_2 \cdot Na_4$ **分子量** 566.23

$C_{20}H_{12}O_{10}P_2 \cdot Na_4 \cdot 2H_2O$ 602.26

理化参数 熔点＞300℃。

制备方法[1] 悬浮10 g 酚酞于18mL三氯甲烷和10ml氧氯化磷中。在冰冷却和不断搅拌下，滴加8mL吡啶（每滴之间隔10～15秒）。滴加完毕再搅拌2小时，放置过夜。在冰冷却下缓慢加入30mL蒸馏水；然后，甚至更小心地分小批加入40%氢氧化钠直至过量(约需60mL)。使冷却并放置2小时，过滤，并弃去结晶。加活性炭（用以吸附酚酞）至滤液中直至出现滤液成为不含酚酞(无色)。加过量浓盐酸至滤液中，用一玻璃棒分离出产物(一胶状物)。迅速用蒸馏水洗几遍，干燥并保存于干燥器中。产量约8 g 。

用途 用于测定磷酸酯酶的底物。

贮存 －20℃，每保存一年约产生0.02%游离酚酞。

参 考 文 献

〔1〕 Fischl, J. Segal, S. and Rabiah, S.: *Clin. Chem.*, 13, 941(1967).

二磷酸酚酞五钠盐 Ⅱ-2(2)-0075

Phenolphthalein diphosphate pentasodium salt

分子式 $C_{20}H_{13}O_{11}P_2 \cdot Na_5$ **分子量** 606.23

理化性质 白色粉末。溶于甲醇、甲酰胺；不溶于乙醇、乙醚。

制备方法[1] 32 g 酚酞在机械搅拌下，以相当快速度加以50g(30mL)纯的、干燥的氧氯化磷在50mL干燥三氯甲烷中。然后在冰浴冷却和快速搅拌下，缓慢地加入25mL干燥吡啶。吡啶加入的速度调节至反应瓶不变热。反应液继续搅拌数小时，放置过夜使反应完全。可抽小样加入过量碱检查反应完全的程度。红色的深度是测定未变化的游离酚酞的量，可以作为反应完全程度的指标。

反应混合液在室温减压蒸发，可稍加温以除去大部分的三氯甲烷。在冰冷却和搅拌下，缓慢加入约100mL水。这将产生氯化氢，并有白色沉淀形成。加入浓氢氧化钠（40%）直至所有沉淀重新溶解，溶液对酚酞呈碱性；溶液中少量的酚酞作为它本身的指示剂。

碱液用乙醚抽提 2 次以除去吡啶。如果太稠，可以加少量水。水层用浓盐酸酸化至对刚果红呈蓝色。此时沉淀二磷酸酚酞酯闪光粘性的物质。当沉淀完全，倾泌上清液，粗产物在氯化钙上真空干燥。干燥的粗产物在研钵内研成粉末。

粉末的粗产物溶于含少量吡啶（为了增加溶解度）的甲醇。加入乙醇钠在乙醇中（金属钠溶于绝对乙醇中）直至不再有沉淀出现。产物以丰富的白色沉淀分离而出，过滤或倾去上清液。沉淀用乙醇和乙醚反复洗涤，直至产物干燥。

此沉淀应为白色，在碱溶液中应为无色。

提纯方法 溶于甲醇:甲酰胺（80:20，v/v）中，再用绝对乙醇沉淀，用乙醇和乙醚沉淀。产物中不含游离酚酞，但含少量无机磷。

用途 用作测定磷酸酯酶的底物。

贮存 干燥、避光和－20℃冷藏，在此条件下相当稳定。

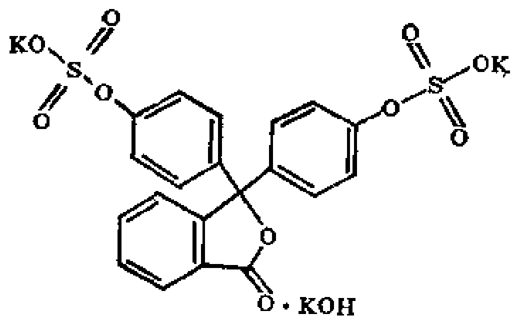
参考文献

〔1〕 Huggins C. and Talalay P.: *J. Biol. Chem.*, 159, 399(1945).

二硫酸酚酞酚三钾盐 Ⅱ-2(2)-0076

Phenolphthalein disulfate tripotassium salt

结构式



分子式 $C_{20}H_{13}O_{11}S_2 \cdot K_3$ **分子量** 610.73

$C_{20}H_{13}O_{11}S_2 \cdot K_3 \cdot 2H_2O$ 646.76($\cdot 2H_2O$)

理化性质 从水-乙醇中得细、无色针状结晶；从水中得长方形片状结晶。极易溶于水。

制备方法[1] 12.5mL干燥吡啶和12.5mL重蒸三氯甲烷在一高型100mL烧杯内，置冰浴中冷却。在搅拌下，慢慢沿杯边从分液漏斗加入5.0mL氯磺酸。在搅拌下，快速加入8.0g酚酞在15mL三氯甲烷中的溶液。移去冰浴，烧杯内混合物搅拌2小时，然后置室温过夜。烧杯置冰浴内，在搅拌下加入80%（w/v）氢氧化钾水溶液直至混合液刚好对石蕊呈碱性（需要14mL氢氧化钾溶液）。加完氢氧化钾后，混合液继续搅拌10分钟。在搅拌下把它倒入150mL绝对乙醇中。形成的沉淀置冰箱使沉下，离心收集。固体物用3×100mL 80%乙醇和20%水（v/v）在水浴上抽提3次。在此操作时，混合液加几滴氢氧化钾溶液使保持对酚酞刚好碱性。抽提液分别冷至室温，然后，置冰浴内冷却。第一次抽提液内有厚的沉淀形成，过滤分离。滤液与第二次、第三次抽提液合并，加入900mL绝对乙醇，形成的沉淀过滤。合并两次沉淀，溶于最小量的水中，在剧烈搅拌下加入80%（w/v）氢氧化钾水溶液使盐析。二硫酸酚酞酯三钾盐用砂芯漏斗过滤。用绝对乙醇洗涤和干燥。产物重10.5g（产率64%，以酚酞量计）。化合物从水中重结晶2次，室温真空干燥（P_2O_5）。产物对酚酞、无机$SO_4^=$、Cl^-、$CO_3^=$和HCO_3^-都呈阴性反应。经过1mol/L盐酸煮沸1分钟后，对酚酞和无机$SO_4^=$呈强阳性反应。

$C_{20}H_{13}O_{11}S_2 \cdot K_3 \cdot 2H_2O$	计算含量	C 37.1	H 2.6	S 9.9	K 18.1
	实测	36.7	2.9	9.8	17.0

用途 用作硫酸酯酶的底物，也是大白鼠肝UDP-葡糖苷酸转移酶的抑制剂。

贮存 －20℃。

参 考 文 献

〔1〕 Whitehead, J. E. M., Morrison, A. R. and Young, L.: *Biochem. J.*, 51, 585(1952).

酚酞葡糖醛酸钠盐 Ⅱ-2(2)-0077

Phenolphthalein glucuronic acid sodium salt

别名 酚酞单-β-葡糖醛酸钠盐Phenolphthalein mono-β-glucuronic acid sodium salt; 酚酞单-β-葡糖苷酸钠盐 Phenolphthalein mono-β-glucosiduronic acid sodium salt; Sodium phenolphthalein β-D-glucuronide

分子式 $C_{26}H_{21}O_{10}\cdot Na$ **分子量** 516.43

理化性质 当溶于水成0.1mol/L溶液，其pH～7.0。

制备方法[1] 酚酞二磷酸二钠盐[2]的制备，干三氯甲烷（40 mL），随混合液（重蒸氧氯化磷50mL和三氯甲烷50mL）在搅拌下，加入至50g酚酞（置1L圆底烧瓶中，外用冰浴冷却）。在搅拌下滴加入干吡啶（40mL），总共要用3～5小时。次日，150mL蒸馏水小量分批加入冰冷反应瓶内，随后，加过量的40%的氢氧化钠（约300mL）。冷却后，针状结晶（磷酸钠）出现，过滤除去。当过量的盐酸（刚果红试纸）加入后，酚酞二磷酸沉淀成胶状，可用玻棒把它分离。

注射溶液❶的制备，上述胶状物置瓷盘内，在沸水浴上加热，在搅拌下逐渐加入20mL浓氢氧化钠（100g＋100mL蒸馏水）。胶状物溶液最后加蒸馏水至总体积200mL。3mL此酚酞磷酸用稀碱调至中性，并用蒸馏水稀释至10mL。这剂量每天皮下注射到每只兔子皮肤的远隔的两个部位，共6天。动物喂以胡萝卜、卷心菜和绿色蔬菜，控制饮水量。其尿每天收集，在甲苯下保存于0℃，收集至第八天的早晨。

在适当期间，将除去甲苯的尿过滤，用6mol/L盐酸调至对刚果红酸性，800mL尿用4×125mL乙酸乙酯抽提。离心（1500×g，10分钟）；界面仍有相当量的凝胶，分别保留。水层如需要再酸化，用1/4体积的乙酸乙酯重抽提2次。合并的凝胶用一倍体积的乙酸乙酯和固体氯化钠（约60g/L凝胶）振摇，离心（1500×g，30分钟），凝胶重抽提同前。合并上述2次抽提的水层，最后用一倍体积的乙酸乙酯重抽提。

合并乙酸乙酯抽提液，过滤以除去水滴，保存于0℃，直至所有尿抽提完成，然后重过滤，在50℃减压浓缩至约1/10体积。热的溶液用活性炭脱色，无水硫酸钠干燥，过滤，粗产品用略为过量的热的、饱和的辛可尼丁在乙酸乙酯中的溶液沉淀，沉淀的完全程度可在沉淀期间取出离心，清液加入冷的、饱和的辛可尼丁的乙酸乙酯溶液检查。

滤过的沉淀真空干燥数小时，用最小量的沸甲醇使溶，溶液中加入4倍体积的乙酸乙酯（分析纯）以重沉淀2次，放置过夜得白色纯产物带1分子结晶甲醇（约12g，还有2～3g不纯的产物）。

分析：称样（20～25mg）在100mL 2mol/L盐酸中，沸腾2.5小时（使水解完全），用碱中和，加至标准体积，比色滴定酚酞（葡糖醛酸辛可尼丁盐的理论含量38.8%）。

葡糖醛酸的辛可尼丁盐（1.58g）悬浮于64mL水和40mL乙酸乙酯中，搅拌加入2.4mL

---

❶ 用商品酚酞二磷酸二钠盐50g，溶于300mL水中，调节至pH7，稀释至375mL。浑浊的溶液保存于0℃备用，pH要定期检查。

浓盐酸（或5.5mol/L硫酸）直至全部溶解。定量地移入分液漏斗中并振摇，水层重新抽提4次（每次用20mL乙酸乙酯）。合并的乙酸乙酯溶液过滤，迅速地减压蒸发，并在减压下充分干燥。残留物重溶于70mL水和10mL 0.1mol/L氢氧化钠中，溶液调至所需pH[注]，并使达200mL（浓度，0.01mol/L）。过滤后保存于0℃，它是相当稳定的。

用途 用作测定β-D-葡糖醛酸酶的底物。

贮存 -20℃。

参 考 文 献

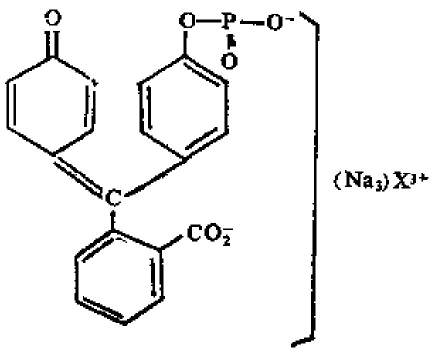
〔1〕 Levvy G. A. and Marsh C. A.: *Adv. Carbohydrate Chemistry*, 14, 392(1959).

〔2〕 Fishman. W.H, Springer B. and Brunetti R.: *J. Biol. Chem.*, 173, 449(1948).

单磷酸酚酞酯三钠盐 Ⅱ-2(2)-0078

Phenolphthalein monophosphate trisodium salt

结构式



(1)

分子式 $C_{20}H_{12}O_5PNa_3$ **分子量** 432.25

理化性质 单磷酸酚酞酯（Ⅰ），X可以是单，二或三价金属离子或带质子的有机铵。

理化参数 90℃变红，然后变黑，但在<400℃并不熔。

制备方法[1] 酚酞（Ⅱ）先转化成它的甲酯，然后与β-氰化磷酸乙酯（Ⅲ）和N, N′-二环已基碳二亚胺（Ⅳ）在吡啶中缩合。所得中间体先用碱，然后用强酸处理。

在一搅拌的溶液（8.0g（Ⅱ）在80mL无水甲醇中）中在氮气下加入54.4mL硫酸，加入的速度要使之维持温和的回流。加完硫酸后，通入氯化氢气体进混合物中达1小时维持温和的回流。冷却混合物，然后和140mL浓氨水一同加到500mL 25℃的乙醚中，得5.2g酚酞甲酯，橙色绒毛状固体。

在10mL含1.51g（Ⅲ）的水溶液中，加入100mL吡啶，得到残留物溶于25mL干燥吡啶，并加入6.18g（Ⅳ）在25mL干燥吡啶的溶液。混合物塞紧，置室温5天，然后，加5mL水，混合物置20～30℃3小时，滤液汽提至干，所得油状物溶于50mL/mol/L氢氧化钠，过滤，回流15分钟。溶液冷却，用三氯甲烷抽提3次，每次15mL。过滤，滤液中加入15mL 6mol/L盐酸。从粘稠油状物倾泌出上清液，油状物溶于1mol/L氢氧化钠，加入等体积的甲醇，再

注：如果不用溶液形式保存，也可将此溶液冷冻干燥保存。

加5倍的乙醚。油状物用10mL乙腈研磨3次，固体从甲醇/乙腈中重沉淀得(Ⅰ)(X=3Na)。它在90℃变红，然后变黑，但在<400℃并不熔。

用途　用于磷酸酯酶的测定。

贮存　-20℃。

参 考 文 献

〔1〕 Merrill E. J. and Babson A. L.; U. S. Pat. 3, 331, 862, July 18, 1967; *Chem. Abstr.* 68: 21704b (1968).

N^{ϵ}-叔丁氧羰酰-N^{α}-苄氧羰酰-L-赖氨酸对硝基苯酯　Ⅱ-2(2)-0079

N^{ϵ}-*t*-Butyloxycarbonyl-N^{α}-carbobenzoxy-L-lysine-p-nitrophenyl ester

别名　N^{ϵ}-Boc-N^{α}-cbz-L-Lys-ONp

结构式



分子式　$C_{25}H_{31}N_3O_8$　**分子量**　501.52

理化性质　在乙醇中重结晶。

理化参数　熔点88～91℃；$[\alpha]_D^{25}$ -14.8±1.0°(C=1.13，丙酮)。

制备方法[1]

N^{ϵ}-*t*-Boc-L-Lys ⟶ N^{α}-cbz-N^{ϵ}-Boc-L-Lys ⟶ N^{α}-cbz-N^{ϵ}-Boc-L-Lys-ONp
(Ⅰ)　(Ⅱ)　(Ⅲ)

1. N^{ϵ}-*t*-Boc-L-Lys(Ⅰ)的铜络合物　10.0gL-赖氨酸单盐酸盐(0.055mol)在80ml水中和10g碱式碳酸铜($2CuCO_3 \cdot Cu(OH)_2$)混合，然后加热至沸。深蓝色溶液在热的时候抽滤除去不溶的碳酸铜，并用一些热水洗涤。赖氨酸铜盐溶液(90mL)冷却，和3g氧化镁混合，然后，在彻底的搅拌下，滴加11.5g迭氮基甲酸叔丁酯(0.080mol)在150mL甲醇中的溶液使混合。深绿色反应混合物在45℃搅拌过夜。在此情况下，N^{ϵ}-*t*-Boc-L-Lys的铜络合物以细、淡蓝色沉淀分离出来。为了除去过量的氧化镁，置冰中冷却，加50mL 2mol/L乙酸，整个反应液在2℃搅拌1小时。在此基础上抽滤铜络合物，用水和甲醇洗涤并干燥。得7.14gN^{ϵ}-*t*-Boc-L-Lys-Cu。熔点230～240℃。产率约30%(以叠氮基甲酸丁酯计)

$C_{22}H_{42}N_4O_8Cu$(554.15)计算含量C47.68H7.64N10.11Cu11.47实测47.2　7.3　10.2　11.3

2. 从铜络合物制得N^{ϵ}-*t*-Boc-L-Lys　14.0g铜络合物(0.0253mol)研成细粉末，悬浮于300mL水中。在冰浴中冷却和50mL2mol/L氨水混合，并在充分搅拌下，通入硫化氢3小时。在此基础上，为了除去过量的硫化氢，在冰冷却下加入75mL2mol/L乙酸并通入空气直至硫化氢的气味消失为止。经活性炭抽滤除去硫化铜后，滤液浓缩。(Ⅰ)以细、明胶状的形式沉淀。抽滤并用少量冰水洗涤。滤液进一步浓缩可再次得到几部分相同的产物，总共得11.0g(Ⅰ)。熔点220～255℃。产物纸层析含约0.1%赖氨酸作为杂质。从水中重结晶2次。熔点237～255℃。$[\alpha]_{25}^{D}$ +4.7±1°(C=0.882，2mol/L氨水)。

$C_{11}H_{22}N_2O_4$(246.30)计算含量C53.64　H9.00　N11.37　实测　53.44　8.73　11.67

产物明显地溶于水、甲醇和二甲基甲酰胺；难溶于丙酮、乙醚；易溶于碱和稀乙酸；在含水矿物酸中溶解产生分解。纸层析(溶剂系统：正丁醇-乙酸-水=2:2:1)R_f=0.72，(溶剂系统：第二丁醇-异丙醇-一氯乙酸-水=70:10:3g:40)R_f=0.80。

3．N^{α}-cbz-N^{ϵ}-Boc-L-Lys(Ⅱ) 30.0g(Ⅰ)(0.122mol) 按照通常方法苄氧羰酰化。含水的碱性相用乙醚洗涤。用乙酸乙酯覆盖一层并在2℃冷却。在此基础上用固体柠檬酸酸化，油状产物在乙酸乙酯中溶解，并用水洗涤乙酸乙酯溶液数遍。用硫酸钠干燥，蒸发得43.4g油状物（Ⅱ)(直至现在未能得到结晶)，产率93%。$[\alpha]_D^{25}-2.4\pm0.5°$($C=2.04$，丙酮)。产物在大多数有机溶剂中易溶，难溶于石油醚。

$C_{19}H_{28}N_2O_6$(380.43)计算含量C59.98 H7.42 N7.36 实测 59.78 7.41 7.17

4．N^{α}-cbz-N^{ϵ}-Boc-L-Lys-ONp(Ⅲ) 546mg(Ⅱ)(1.43mmol) 在2mL绝对吡啶的溶液中和492mg(1.52mmol) 双-对硝基苯亚硫酸混合，并在25℃放置16小时。真空蒸发除去吡啶后，残留物溶解在二氯甲烷中，溶液在冰冷却下用稀柠檬酸和水洗涤。为了除去对硝基苯酚，用1份0.5mol/L氢氧化钾和2份0.5mol/L碳酸氢钾的混合物抽提几遍，然后再用水洗涤，用硫酸钠干燥，蒸发。残留物从丙酮-乙醚中得550mg（产率77%)(Ⅲ)。熔点87～90℃。为了分析用样品从乙酸乙酯和乙醚、丙酮-乙醚中重结晶。

$C_{25}H_{31}N_3O_8$(501.52)计算含量C59.87 H6.23 N8.38 实测 59.99 6.16 8.61

贮存 -20℃保存。

参考文献

〔1〕 Schwyzer R., and Rittel W.: *Helv. Chim. Acta.*, 44, 159(1961).

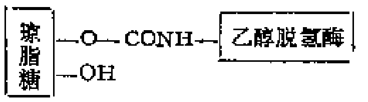
第三节 固定化酶

琼脂糖固定化乙醇脱氢酶 Ⅱ-2(3)-0001

Immobilized alcohol dehydrogenase on agarose

别名 Insoluble alcohol dehydrogenase on agarose

结构式



理化性质 **稳定性** 在贮存条件下，数月后仍可不损失活性。在甘油和Sephadex G-200存在下，冷冻干燥后，可得80%的活性，腺苷一磷酸（AMP）存在时增加稳定性。米氏常数 以乙醇作为底物，其表观K_m为2.9。固定化酶抗热性比自由酶强，在pH9和60℃的条件下，自由酶25分钟活性损失一半，固定化酶为50分钟。理化参数 酶活性为1250U/g固体。酶活性单位定义 在pH8.8和30℃的条件下，每分钟使1.0μmol的乙醇转变为乙醛，称为一个活性单位。

制备方法[1] 本制备方法为共价键偶联法。

1．**活化琼脂糖的制备** 将珠状琼脂糖4%或Sepharose 4B用蒸馏水洗涤后抽滤，称取13g固体，悬浮于20mL，4℃水中，在电磁搅拌下缓缓加入溶于42mL的0.75g溴化氰乙腈溶液，同时缓缓用2mol/L的氢氧化钠维持pH10.8～11，反应保持低温，约消耗2mL的氢氧化钠后，停止反应，立刻抽滤除去反应液，沉淀用500mL冷的0.05mol/L碳酸氢钠溶液抽滤洗涤，再用100mL冷蒸馏水洗涤，而后将此活化的琼脂糖悬浮于冷的（4℃)0.05mol/L碳酸氢钠溶液中，在3小时内应用完毕。

活化琼脂糖冷冻干燥产品已有商品供应，使用时可将此商品悬浮于0.1mol/L pH6.9的

磷酸缓冲液中，待其充分溶胀后立刻应用。

2．偶联反应　将酶溶于含有 0.2mol/L 氯化钾的 0.05mol/LpH 7.3 的磷酸缓冲液中，使蛋白浓度为10～20mg/mL，而后在 4℃用0.05mol/L的 pH8.9 之碳酸氢钠透析数小时；将此酶液加入到活化琼脂糖中，在4℃(2～5℃)下搅拌偶联反应 18小时；抽滤除去反应液，沉淀分别用0.05mol/L碳酸氢钠和0.5mol/L氯化钠加 0.025mol/L的碳酸氢钠洗涤。取出沉淀置0.05mol/L甘氨酸-0.025mol/L碳酸氢钠中过夜，使未与蛋白偶联的活性基团与甘氨酸偶联，次日取出，过滤除去反应液，用0.1mol/LpH6.8～7.3的磷酸缓冲液洗涤除去残存的甘氨酸，悬浮于同上的缓冲液中备用。要放置较长期之后，应用时可按下方法制备：①悬浮于0.1mol/LpH7.3的磷酸缓冲液中，加入0.02％的叠氮钠。②在柠檬酸和乳糖保护下成冷冻干燥粉。

贮存　0℃以下。

参 考 文 献

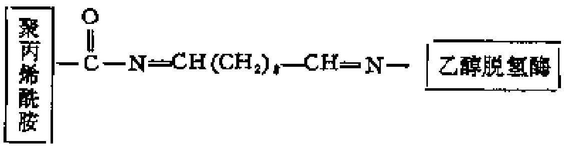
〔1〕 Görish, H. and Schneider, M.; *Biotech. Bioeng.*, 26 998(1984).

聚丙烯酰胺固定化乙醇脱氢酶　　Ⅱ-2(3)-0002

Immobilized alcohol dehydrogenase on polyacrylamide

别名　Insoluble alcohol dehydrogenase on polyacrylamide

结构式



理化性质　在 4℃ 贮存三周后，固定化酶活性损失约 10％，在相同条件下自由酶活性损失50％。固定化酶以乙醇作为底物时K_m＝0.57，高于自由酶的K_m。

理化参数　酶活性为100U/g固体。

酶活性单位定义　在pH8.8和30℃的作用条件下，每分钟使1.0μmol 的乙醇转变为乙醛，称 1 个活性单位。

制备方法[1]　本制备方法为载体交联法。

1．珠状聚丙烯酰胺的制备　装有搅拌器的三颈瓶中放置 400mL 的甲苯-三氯甲烷溶液(290∶110体积比)，并在氢气下搅拌，转速260转/分钟，在搅拌下加入60mL的反应液，该反应液由5.7 g 丙烯酰胺和 0.3 g 的N,N-亚甲基双丙烯酰胺溶于58.5mL的0.1mol/LpH7.3的Tris-HCl缓冲液中，然后加入 0.5mLN,N,N',N'-四甲基乙二胺（TEMED）和 1.0mL过硫酸铵（浓度为0.4g/mL）组成，此溶液混匀后立刻倒入到三颈瓶中，搅拌下反应30分钟，停止搅拌待5分钟，用沙芯漏斗过滤，除去甲苯、三氯甲烷层，珠状物用 0.5mol/L 的氯化钠洗涤，最后用4 L 蒸馏水洗涤，产物可冻干备用。

二聚丙烯酰胺活化100mg干重的珠状聚丙烯酰胺，悬浮于2mL的 6％的戊二醛磷酸缓冲液（0.2mol/L，pH7.4）中，在40℃激活14小时以上，反应完毕后用4℃蒸馏水彻底洗涤，

除去过量的戊二醛，最后过滤得活化珠状聚丙烯酰胺备用。

2．酶偶联反应　2mg酶溶于冷的2mL0.1mol/L的磷酸缓冲液pH7.4中，制成冷的酶溶液，将此溶液和活化珠状聚丙烯酰胺混和，在4℃进行偶联反应3小时。反应完毕后用0.1mol/L碳酸氢钠洗涤数次，再用0.1mol/L碳酸氢钠和0.1mol/L氯化钠溶液彻底洗涤除去酶溶液，最后用0.05mol/L磷酸缓冲液（pH7.8）洗涤，并可浸泡其中备用。在洗涤过程中不必加保护试剂。

贮存　悬浮于0～5℃的硼酸缓冲液中。

参考文献

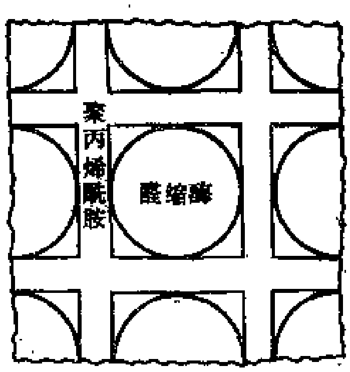
〔1〕 Johansson, Ann-christin and Mosbach, C. *Biochem. Biophys. Acta.*, 370 339, 348(1974).

聚丙烯酰胺固定化醛缩酶　Ⅱ-2(3)-0003

Immobilized aldolase on polyacrylamide

别名　Insoluble aldolase on polyacrylamide

结构式



分子量　154000

理化性质　酶的最适pH值和自由酶相同。酶和胶结合紧密，使用高能超声波也不能将酶和载体分开。酶的相对活性为自由酶的10%。

理化参数　酶活性每克固体25单位。

酶活性单位定义　在pH7.4和30℃条件下，每分钟使1.0μmol的1,6-二磷酸果糖成为磷酸二羟丙酮和3-磷酸甘油醛称一个活性单位。

制备方法[1,2]320mg亚甲双丙烯酰胺溶于6.5mL水中，依次加入1mLpH8.6的1mol/L的Tris缓冲液；0.5mL浓度为2mmol/L的硫酸铵铝〔$AlNH_4(SO_4)_2$〕；0.56mL1%的TEMED和2mL醛缩酶（23～24mg结晶的酶）；最后加入新鲜配制的0.5%过硫酸铵溶液。混均匀后，将此混合物置于一有空气的培养皿中，在37℃摇床上缓缓摇动并保温1小时，然后剧烈振荡数分钟，形成凝胶粒，将胶粒溶液置离心管中，在34000×g离心25分钟，除去上清液，沉淀悬浮于20mL蒸馏水中，在相同离心力下离心，取沉淀，反复操作多次，洗涤除去残留的自由酶最后固定化醛缩酶悬于30mL水中或硼酸缓冲液中。

贮存　0～5℃。

参 考 文 献

〔1〕 Bernfeld, P. and Wan, J.: *Science.*, 142 678(1963).

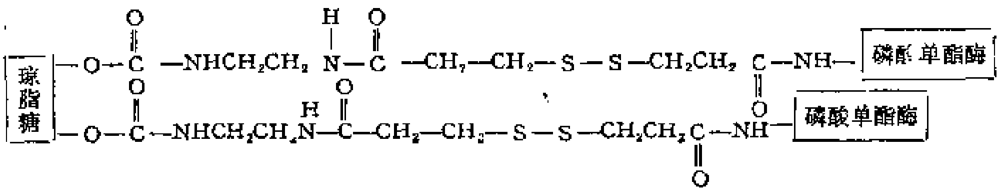
〔2〕 Bernfeld, P., Bieben, R. E. and Maedonnel, P. C.: *Arch Biochem. Biophys.* 127 779(1968).

琼脂糖固定化碱性磷酸单酯酶　Ⅱ-2(3)-0004

Immobilized alkaline phosphatase on agarose

别名　Insoluble alkaline phosphatase on agarose

结构式



分子量　86000(二聚体)

理化性质　每mL固定化酶中的蛋白含量为0.59mg，比活为每毫克蛋白14单位。

理化参数　酶活性为每克固体4000单位。

酶活性单位定义　在pH10.4和37℃反应条件下，每分钟水解1.0μmol对硝基苯磷酸酯为一个活性单位。

此酶固定化之后，需二聚体才有酶活性，单个无活性。

制备方法[1]　本制备方法是具有“手臂”的共价键偶联法。

1. 琼脂糖接“手臂”氨基琼脂糖的制备：在60mL的Sepharose CL-4B中，加入180mL的0.25mol/L碳酸钠和1.5g的溴化氰的水溶液50mL，在室温搅拌反应2分钟，抽滤除去反应液，再用4℃的0.25mol/L的碳酸钠60mL洗涤琼脂糖，取出后放到2倍体积的1.0mol/L的二乙胺水溶液中，此时pH为10，搅拌反应过夜，次日抽滤除去反应液，沉淀用去离子水洗涤至pH中性，加入0.02%的叠氮钠可长期贮存。

二巯基-双-琥珀酰亚胺丙酸酯琼脂糖(DTSP-琼脂糖)的制备：将上述氨基琼脂糖50mL，用去离子水洗涤除去NaN_3，再用2倍体积的二甲基甲酰胺洗涤2次，琼脂糖和等体积的二巯基-双-琥珀酰亚胺丙酸酯（dithio-bis-succinimidyl propionate）的二甲基甲酰胺溶液混和反应，此溶液的浓度为8mg/mL。在搅拌下室温反应24小时，抽滤除去反应液，用2倍体积的二甲基甲酰胺洗涤，而后用去离子水洗涤除去有机溶剂后备用。

2. 与酶偶联反应　将上述的DTSP-琼脂糖用pH6.7的含有0.5 mol/L氯化钠的2.5 mmol/L的磷酸钾钠缓冲液充分洗涤，最后将DTSP-琼脂糖悬浮于此缓冲液中备用。

将上述缓冲液溶解碱性磷酸单酯酶，配制成浓度为2.5mg/mL的酶溶液，而后将DTSP-琼脂糖抽滤除去缓冲液，沉淀倒入等体积的酶溶液中，在室温搅拌反应过夜。次日抽滤除去反应液，用缓冲液洗涤一次，而后用0.1mol/L的乙二胺水溶液反应2小时，此时反应pH为8.8。反应完毕后，抽滤除去反应液，用缓冲液洗涤除去乙二胺，此时而定化酶可用DTNB法滴定联接上去的酶量，方法为：取1mL固定化酶琼脂糖，加入二倍体积的0.1mol/L巯基乙醇溶液还原，反应完毕后用0.1mol/L的Tris-HCl pH8.0缓冲液洗涤，而后用DTNB法测定，可知74nmol碱性磷酸酯酶存在。

将上述固定化酶用含有2×10^{-5}mol/L的氯化锌和4mmol/L氯化镁的1mol/L氯化钠的0.1mol/L Tris-HCl缓冲液pH8.0彻底洗涤，而后用含有2×10^{-5}氯化锌和4mmol/L的氯化镁的pH8.0的0.1mol/LTris-HCl缓冲液悬浮洗涤，抽滤除去洗涤液后固定化酶重新悬浮于此缓冲液中，此时上清液中无明显的自由酶活性。

贮存 0℃。

参 考 文 献

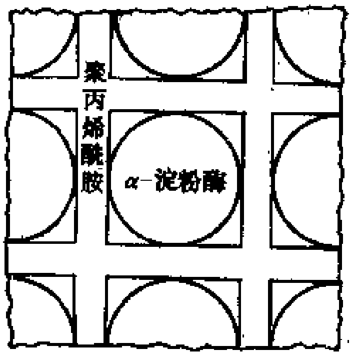
〔1〕 McCracken, S. and Meighen, E., :*Can. J. Biochem.*, 57, 834(1979).

聚丙烯酰胺固定化α-淀粉酶 Ⅱ-2(3)-0005

Immobilized α-amylase on polyacrylamide

别名 Insoluble α-amylase on polyacrylamide; Insoluble α-1,4-glucan-4-glucanohydrolase

结构式



分子量 96900

理化性质 酶反应的最适pH与自由酶相同；固定化酶的相对活性为1.9。酶胶稳定，酶不会从胶中释放出来。

理化参数 酶活性每克固体300单位。

酶单位定义 在pH6.9和30℃条件下，每分钟从淀粉中水解出1.0μmol的麦芽糖称一个活性单位。

制备方法[1] 2mg的α-淀粉酶中，依次加入120mg双丙烯酰胺，5.6mgTEMED。0.5mgAl$(NH_4)(SO_4)_2\cdot12H_2O$加到1mL的1mol/L的pH8.6Tris缓冲液中，而后加入到上述溶液中，再用蒸馏水稀释到11mL，最后加入5mg过硫酸铵，混合物于35℃中保温1小时，不要搅动，结成一块凝胶，而后机械分散，于17000转/分钟(34000×g)离心30分钟，除去清液，沉淀用20mL蒸馏水洗涤，离心除去溶液，反复洗涤多次，除去残留的自由酶；最终得到的为絮状沉淀物，可悬浮于硼酸缓冲液中。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

〔1〕 Bernfeld, P. and Wan, J.:*Science.*, 142, 678(1963).

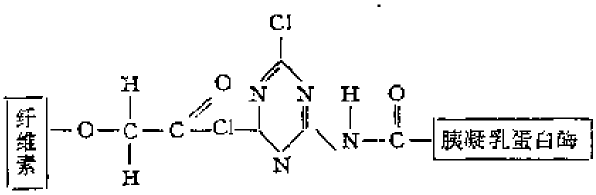
羧甲基纤维素固定化胰凝乳蛋白酶

Ⅱ-2(3)-0006

Immobilized chymotrypsin on carboxymethyl cellulose

别名 Insoluble chymotrypsin on carboxymethyl cellulose

结构式



理化性质 固定化酶最适pH比自由酶高，最适pH8～9。表观和自由酶相似，但受pH影响（在pH8.0时）小于自由酶K_{mapp}为25mmol，表观V_{max}升高。

低离子强度时，活性比高离子强度时大。在pH6时，K_{cat}=36秒，为氯化钠存在时的几倍。抗热性较自由酶为高。

理化参数 酶活性每克固体600单位。

酶活性单位定义 在pH8.0，温度30℃条件下，每分钟水解1.0μmol的N-乙酰酪氨酸乙酯（ATEE），称一个活性单位。

制备方法[1]

1．2-氨基-4,6-二氯-S-三嗪的制备 将氨气通入浓氨溶液，带着氨气通过氢氧化钠颗粒的导管干燥，得干燥氨气。将0.88g干燥氨气通入到含有184g的氯化氰溶液中，此溶液的溶剂为1L二氧六环和200mL的甲苯，在5～8℃反应，逐渐有固体析出，形成浓的悬浮液，反应完毕后抽滤，用500mL二氧六环洗涤，而后蒸发除去二氧六环，产品得粗产品。将上述粗产品先溶于丙酮和水的等比例溶剂中，减压除去丙酮，抽滤得沉淀，沉淀再溶于沸水中，10分钟内冷至室温后待结晶，次日过滤得精品，产率为90%。

2．羧甲基纤维素氯氨-S-三嗪衍生物的制备

10g羧甲基纤维素（干重）加入到含有1g 2-氨基-4,6-二氯-S-三嗪的50mL丙酮和(1:1v/v)的混合溶液中，在50℃搅拌5分钟，然后加入新鲜配制的碳酸钠—盐酸缓冲液(20mL的15%w/v碳酸钠水溶液和12mL的1mol/L的盐酸)。继续在50℃搅拌5分钟，加入浓盐酸使反应液pH迅速降到pH7.0，而后抽滤，沉淀用100mL的丙酮-水(1:1)溶液洗涤3次，而后用大量的蒸馏水洗涤到无氯离子，最后用0.05mol/L的磷酸钠缓冲液pH7.0洗涤，贮存于2℃备用。

3．酶偶联反应 将胰凝乳蛋白酶溶于水中，使浓度为20mg/mL，而后加入0.5mol/L的pH8～7.5的硼酸钠缓冲液，使反应时盐浓度在0.07～0.2mol之间，加入用碱调pH至8.0的上述纤维素衍生物的悬浮液，使反应时酶浓度在7～15mg/mL。反应在20℃搅拌下进行4小时，反应完毕后，抽滤，沉淀用三种不同的溶液洗涤，①pH8.0的0.05mol/L的磷酸钠缓冲液洗涤2次；②含1mol/L的氯化钠的上述磷酸钠缓冲液多洗涤几次，除去未反应的酶；③再用0.05mol/L的磷酸钠缓冲液洗到无氯离子。

贮存 可在0.05mol/LpH8.0的磷酸钠缓冲液中2℃贮存，也可在pH8.0硼酸缓冲液中0℃贮存。

参 考 文 献

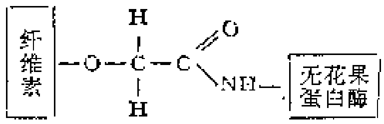
〔1〕 Kay, G. and Lilly, M. D.; *Biochim. Biophys. Acta.*, 198 276(1970).

羧甲基纤维素固定化无花果蛋白酶　　Ⅲ-2(3)-0007

Immobilized ficin on carboxymethyl cellouse

别名 Insoluble ficin on carboxymethyl cellouse

结构式



分子量 24000

理化性质 在pH5.0和2℃条件下，4个月酶活性下降小于15%，并且不依赖于半胱氨酸的激活。冷冻干燥后，不影响酶的活性。CM-cellulose 70-无花果酶的固定化酶水解底物为苯甲酰精氨羧乙酯（BAEE）时，最适pH偏碱；水解底物为干酪素时pH不变。与自由酶比较则抗热性增加。最大酶比活近于6.0（单位为μmolBAEE/mg蛋白·分）；为自由酶的11%左右。$K_m=2\times10^{-3}$(底物为BAEE)，为自由酶的10～20%。

理化参数 酶活性每克固体100单位。

酶活性单位定义 在pH7.0和25℃时，每分钟水解1.0μmol的苯甲酰精氨酸乙酯（BAEE）称一个活性单位。

制备方法[1]

1．对氯高汞苯甲酯（PCMB）抑制的无花果蛋白酶制备　0.1mol/L的半胱氨酸100mL中，加1000mg无化果蛋白酶，室温搅拌溶解后，调节pH至6～7，搅拌下反应数小时，而后用葡聚糖凝胶Sephadex G-25分离除去过量的半胱氨酸,还原的无花果蛋白酶用紫外分光光度计在280nm的波长处测定，合并有紫外吸收的峰,加入0.1mol/L的PCMB直到用BAEE测定无酶活性，此时酶被PCMB抑制；但用半胱氨酸处理的酶可用氧化剂将其活性全部恢复。将PCMB抑制的酶，对pH7.0的0.005mol/L的磷酸缓冲液透析除去过量的PCMB，而后冷冻干燥备用。

2．羧甲基纤维素的活化　将羧甲基纤维素干粉10g，悬浮于50mL无水甲醇中，待充分溶胀后过滤除去甲醇，沉淀重新悬浮于25mL无水甲醇中，充分搅拌除去残存的水分后，过滤将沉淀重新悬浮于25mL无水甲醇中，加入5mL氯化亚砜，充分搅拌反应数小时，抽滤除去反应液，沉淀用无水甲醇洗2次，再用乙醇洗，直到无氯化亚砜及氯离子，此时为羧甲基纤维素甲酯。操作时全部器皿要干燥无水。

将上述羧甲基纤维素与水合肼作用，形成羧甲基纤维素酰肼。

3．酶偶联反应　1g羧甲基纤维素酰肼悬浮在150mL的2%盐酸溶液中，在低温和缓缓搅拌下，加入9mL的3%亚硝酸钠，反应20分钟后抽滤除去反应液，沉淀用150mL二氧六环洗涤，再用去离子水洗至中性。取出沉淀，悬浮于100mL的pH8.7的0.05mol/L的磷酸钠缓冲液中，加入250～450mg上述的酶，缓缓搅拌2小时，用0.1mol/L磷酸调节pH到4，抽滤除去反应液，沉淀再用150mLpH3的水洗涤2次，再用蒸馏水洗1次，然后冷冻干燥；或悬

浮于pH7.0硼酸缓冲液中。

贮存 0～5℃。

备注 羧甲基纤维素来源不同，其羧基当量也不相同，因而其偶联的蛋白量也不同，所以相同的制备方法得到不同的酶活性单位的固定化酶。

参 考 文 献

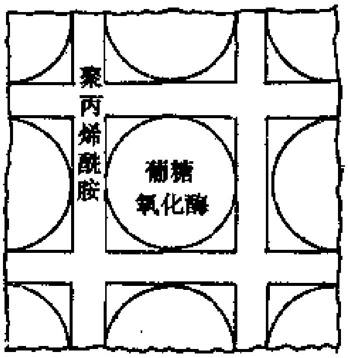
〔1〕 Hornby, W. E., Lilly M. D. and Crook, E. M.; *Biochem. J.*, 98 420 (1966).

聚丙烯酰胺固定化葡糖氧化酶 Ⅱ-2(3)-0008

Immobilized glucose oxidase on polyacrylamide

别名 Insoluble glucose oxidase on polyacrylamide

结构式



理化性质 表观白色透明，机械强度高。

在37～70℃加热10分钟，酶活性无显著变化；冻干粉于0～4℃贮存30个月活性无明显降低。

理化参数 酶活性为每克固体10～20单位。

酶活性单位定义 在过氧化氢存在下，pH5.1和30℃的作用条件下，每分钟氧化1μmol的葡糖成为葡糖酸称一个活性单位。

制备方法[1,2]本法为格子型包埋法。

41g单体丙烯酰胺溶于100mL的0.1mol/L磷酸缓冲液中（pH7.4）；2.3g交联剂甲叉双丙烯酰胺溶于100mL的0.1mol/L磷酸缓冲液中（pH7.4），制成二种贮存液于5℃贮存。

上述1mL丙烯酰胺溶液和4mL甲叉双丙烯酰胺溶液的比例混和，加入葡糖氧化酶2.5mg/1mL丙烯酰胺溶液和0.03mg核黄素/1mL丙烯酰胺溶液及0.03g过硫酸铵/1mL丙烯酰胺。酶在胶中的浓度为50mg/100mL凝胶。在加酶之前，通氢除去胶中氧，用灯照射，聚合反应在2～15分钟完成。当氧被完全除去时，聚合反应速度显著加快，同时为了防止聚合反应过程中酶的热失活，反应在水浴中进行，水温低于室温。

块状的酶胶聚合物用机械法分散成颗粒，先让其通过13号注射针，再通过16号注射针，而后注射到0.1mol/L的磷酸缓冲液（pH7.4）中，使凝胶成为极小的颗粒状，待机械分散完毕后，凝胶粒悬于0.1mol/L磷酸缓冲液中，用倾泌法洗涤，每次洗涤的间隔时间为2分

钟，约需洗涤10次，使极细小的颗粒和可溶性酶等洗涤清除。

洗净的颗粒最后悬浮于蒸馏水中冷冻干燥。干燥后的颗粒用分样筛20～40目取颗粒。

贮存 0℃。

参 考 文 献

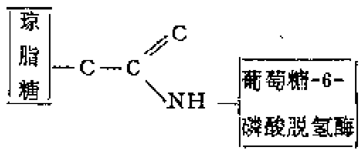
〔1〕 Hicks, G. P. and Updike, S. J.: *Anal. Chem.*, 38 726(1966).
〔2〕 Wingard, L. B., Liu, C. C., and Nagda, N. L.: *Biotech. Bioeng.*, 13 629(1971).

琼脂糖固定化葡糖-6-磷酸脱氢酶 Ⅱ-2(3)-0009

Immobilized glucose-6-phosphate dehydrogenase on agarose

别名 Insoluble glucose-6-phosphate dehydrogenase on agarose

结构式



理化性质 固定化酶在pH 6～10的宽范围内和在标准的pH 7.2下测酶活性皆相同；自由酶则有显著影响（最佳pH在7.5）。在50℃保温15分钟，然后在25℃测定酶活性，固定化酶还残存50%活性，而自由酶则完全损失其活性。在室温下保存4个月后活性并不损失。$K_m^{NADP}=4.5\times10^{-5}$mol；$K_m^{Glc-6-P}=1.2\times10^{-4}$mol。

理化参数 酶活性每克琼脂糖为2000单位。

酶单位定义 在NADP的存在下，于pH7.4和30℃的反应条件下，每分钟氧化1.0μmol的葡萄糖-6-磷酸成为6-磷酸葡糖酸称为1个酶活性单位。

制备方法[1,2] 本法为共价载体偶联法。

1. 溴化氰活化琼脂糖的制备 5g珠状Sepharose 4B用蒸馏水溶胀洗涤后抽干。1.25g溴化氰溶于5mL蒸馏水中，在冰浴中冷却，而后加入珠状Sepharose 4B中，在温和搅拌下用1mol/L氢氧化钠调节并维持pH在11.0，搅拌反应8分钟，迅速抽滤除去反应液，并用冰水洗涤沉淀，除去残余的溴化氰和氢氧化钠，最后用0.1mol/L碳酸氢钠洗涤。将沉淀悬浮于pH8.0的0.1mol/L碳酸氢钠缓冲液中备用，时间不能超过1小时。

2. 酶偶联反应 将3000单位的葡糖-6-磷酸脱氢酶加入到上述每克溴化氰活化琼脂糖中，反应于4℃进行2天，温和搅拌，反应完毕后抽滤除去反应液，沉淀用0.05mol/L碳酸氢钠缓冲液pH8.0和1mol/L氯化钠充分洗涤除去残留的酶，最后沉淀悬浮于pH7.6的0.1mol/L硼酸缓冲液中，或悬浮于20.mol/L硫酸铵（pH7.0）中。

贮存 0～5℃。

参 考 文 献

〔1〕 Mosbach, K. and Mattiasson, B.: *Acta Chem. Scand.*, 24 2093(1970).
〔2〕 Avén, R. and Ennback, S.: *Eur. J. Biochem.*, 18 351(1971).

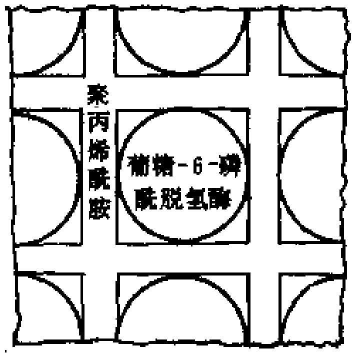
聚丙烯酰胺固定化葡糖-6-磷酸脱氢酶

Ⅱ-2(3)-0010

Immobilized glucose-6-phosphate dehydrogenase on polyacrylamide

别名 Insoluble glucose-6-phosphate dehydrogenase on polyacrylamide

结构式



理化性质 －15℃贮存80天后活性为39%；重复使用多次，无多大的活性损失。

理化参数 酶活性为每克固体60单位。

酶单位定义 在NAOP存在下及pH7.4和30℃条件下，每分钟氧化1.0μmol G-6-P成为6-磷酸葡糖酸称1个酶活性单位。

制备方法[1] 本法为格子型包埋法。

1. 贮存液的配制 贮存液Ⅰ的配制：0.5mL的0.1mnl/L pH6.5的磷酸缓冲液中，含有95mg丙烯酰胺单体、2mg过硫酸铵和15μL TEMED。贮存液Ⅱ的配制：0.5mL的0.1mol/L pH 6.5的磷酸缓冲液中，含有甲叉双丙烯酰胺和35单位的G6P-DH。

2. 合成方法 将上述两种贮存液于0℃放置，然后在0℃以1∶1的体积比混和，在氮气流中聚合，放置1小时后，聚合反应完成，取出硬胶，将此胶置于30目的分样筛中，用力挤过筛孔，制成颗粒，先用0.05mol/L碳酸氢钠洗涤数次，再用0.5mol/L氯化钠洗涤至中性，最后用Tris-氯化镁缓冲液洗涤数次，而后可悬浮于磷酸缓冲液中（pH7.2）。

贮存 低于0℃。

参 考 文 献

〔1〕 Mosbach, K. and Mattiasson, B.: *Acta Chem. Scand.*, 24,2084(1970).

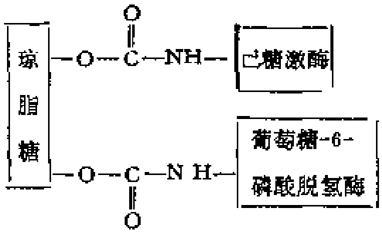
琼脂糖固定化己糖激酶/葡糖-6-磷酸脱氢酶

Ⅱ-2(3)-0011

Immobilized hexokinase/glucose-6-phosphate dehydrogenase on agarose

别名 Insoluble hexokinase/glucose-6-phosphate dehydrogenase on agarose

结构式



理化性质 此酶比自由酶系的活性增加了40～100%。

理化参数 酶活性为：己糖激酶（HK），每克琼脂糖400～600单位；葡糖-6-磷酸脱氢酶（G6P-DH）每克琼脂糖400～600单位；酶联反应时酶活性每克琼脂糖为400单位。

酶活性单位定义 酶联反应是在pH7.4和30℃的条件下进行，当葡萄糖被ATP磷酸化时，每分钟产生1.0μmol的NADPH称1个单位。G6P-DH的酶活性单位见G6PDH(Ⅱ-2(3)-0009)，HK的酶性单位定义是在pH7.4和30℃反应条件下，每分钟使1.0μmol的葡萄糖磷酸化为1个单位。

制备方法[1] 本法为共价键载体偶联法。

1．琼脂糖活化 将珠状Sepharose 4B用蒸馏水充分溶胀后，洗涤1次，而后悬浮在蒸馏水中备用。

每mL Sepharose 4B用2mL的溴化氰水溶液，溴化氰浓度为50mg/mL，在温和搅拌下反应8分钟，以4mol/L的氢氧化钠维持pH11，反应完毕后，迅速抽滤除去反应液，沉淀用冷蒸馏水充分洗涤，使pH降至中性，最后用0.05mol/L的碳酸氢钠洗涤，沉淀取出后，悬浮于冷的0.05mol碳酸氢钠缓冲液中，1小时之内要应用于酶偶联反应。

2．酶偶联反应 已糖激酶在4℃对pH7.0的0.1mol/L的缓冲液透析20小时，酶活性每毫升为近500单位。G6P-DH可用酶活性适当低的酶（如200单位/毫克），同样对pH7.0的0.1mol的磷酸缓冲液4℃透析20小时，二种酶各按每g琼脂糖加620单位酶活性的清液和活化琼脂糖反应；在温和搅拌下4℃进行反应12小时，反应完毕后，抽滤除去反应液，沉淀先用0.1mol/L碳酸氢钠洗30分钟，而后取出沉淀，悬浮于0.001mol/L的盐酸中，悬浮抽滤洗涤3次，再用0.05mol/L氯化钠洗涤除去盐酸，最后用Tris-$MgCl_2$缓冲液（pH7.0）洗涤除去氯化钠，洗涤完毕后可悬浮于pH7.0的硫酸铵中备用。

贮存 0～5℃。

参 考 文 献

〔1〕 Mosbach, K. and Mattiasson, B: *Acta Chem Scand.*, 24, 2093(1970).

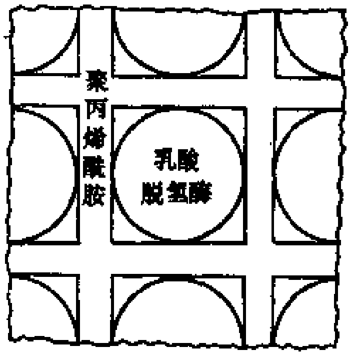
聚丙烯酸酰固定化　　Ⅱ-2(3)-0012

乳酸脱氢酶

Immobilized lactic dehydrogenase on polyacrylamide

别名 Insoluble lactic dehydrogenase on polyacrylamide

结构式



理化性质 包埋不同浓度的酶对酶活性有影响，在100 mg/100 mL胶时，可得最佳活性。冻干的酶在0～4℃时，3个月不损失活性，超过3个月，每月损失10%活性。在溶液中，4℃放置3个月，将损失大部分活性。在37℃时固定化酶（150mg酶/100mL胶）保温10小时活性无明显下降，20小时后，损失一半活性，而自由酶将损失90%活性。在NAD存在时$K_m=2.0\times10^{-3}$mol；在乳酸存在时$K_m=0.056$mol。机械强度较高。表观为白色透明颗粒。

理化参数 酶活性每克固体40单位。

酶活性单位定义 在pH7.5和30℃时，每分钟还原1.0μmol的丙酮酸为乳酸称1单位活性。

制备方法[1] 本制备方法为格子型包埋法。

40g丙烯酰胺单体溶于100mL的pH7.4的0.1mol/L磷酸缓冲液中。再将2.3g甲叉双丙烯酰胺交联剂溶于100mL的pH7.4的0.1mol/L的磷酸缓冲液中。上述而种溶液可在5℃贮存数周。

将1mL丙烯酰胺贮液和4mL双丙烯酰胺贮液混合，抽气除去气体（氧气），再加入0.03 mg核黄素和0.03mg过硫酸铵，最后加1mL酶液（50单位/mL），用灯照射，聚合反应在2～15分钟完成，为了防止聚合反应过程中酶的热失活，反应需在冰浴中进行。

聚合成块状的胶体通过机械分散成颗粒，首先切成条状，而后通过13号注射针，通过16号注射针，使胶成为极小的颗粒，将胶粒悬浮于0.1mol/L的pH7.2的缓冲液中，搅拌后放置2分钟，倾泌除去上层液体，反复操作约10次，直到放置2分钟后，上层液体中无小颗粒及自由酶活性为止。

洗净的颗粒悬浮于蒸馏水中，冷冻干燥。或悬浮于pH7.4的硼酸缓冲液中。

贮存 0～5℃。

参 考 文 献

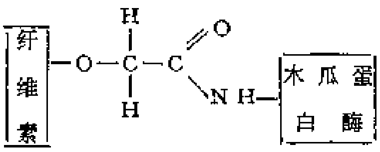
〔1〕 Hicks, G. P. and Vpdike, S. J.; *Anal. Chem.*, 38, 726(1966).

羧甲基纤维素质定化木瓜质白酶　　Ⅱ-2(3)-0013

Immobilized papain on carboxymethyl cellulose

别名 Insoluble papain on carboxymethyl cellulose

结构式



分子量 21000

理化性质 最适的酶和载体的重量比为1.0，每mg载体蛋白为250μg，比活为196单位/mg蛋白。相对活性为23%。

理化参数 酶活性为每克固体250单位。

酶活性单位定义 在pH 7.0和30℃条件下，每分钟水解1.0μmol苯甲酰精氨酸乙酯（BAEE）称1活性单位。

制备方法[1]

1. 羧甲基纤维素（CMC）的甲酯化 100g CMC-11（交换当量0.6mmol/g）悬浮于1.5L甲醇中，磁力搅拌下加入10mL浓盐酸，加热回流4小时，抽滤除去反应液，沉淀用无水乙醇彻底洗涤，除去盐酸。得羧甲基纤维素甲酯。

2. CMC的酰肼化 100g上述CMC甲酯，加入1L的甲醇和水合肼100mL中，40℃保温下搅拌反应72小时，抽滤除去反应液，依次用2×250mL甲醇，二氧化碳饱和的甲醇，90%的甲醇溶液和无水甲醇洗涤，彻底除去残留的水合肼。

3. CMC的叠氮化 将上述5g CMC酰肼悬浮于200mL的0.6mol/L盐酸中，盐冰浴中冷却至0℃，加入25mL的5%$NaNO_2$溶液，边加边剧烈搅拌，20分钟加完，继续搅拌反应20分钟，抽滤除去反应液，用冰水2×200mL和200mL冰的1mol/L氯化钠洗涤，再用2×200mL冰水洗涤，抽干备用。

4. 酶偶联反应 1g酶溶于100mL的0.1mol/L的碳酸氢钠溶液中，加入2mmol的巯基乙醇和2mmol的EDTA，调pH到8.0，而后加入1g上述的羧甲基纤维素叠氮，搅拌反应2小时，抽滤除去反应液，沉淀的洗涤依次用：2×250mL的0.1mol/L碳酸氢钠溶液、3×250mL的1.0mol/L氯化钠溶液、3×250mL的0.2mol/L的磷酸缓冲液，其中包含10mmol的半胱氨酸和1mmol的EDTA，最后用去离子水洗涤，冷冻干燥。

贮存 低于0℃。

参 考 文 献

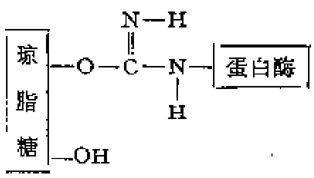
〔1〕 Crook, E. M., Brocklemrst, K. and Wharten, C.: "Methods Enzymol." Vol. 19 Academic Press 963 1970.

琼脂糖固定化蛋白酶 Ⅱ-2(3)-0014

Immobilized protease on agarose

别名 Insoluble protease on agarose

结构式



理化性质 次干酪素为底物时，其水解反应的pH范围在6～11；若次对甲苯磺酰-L-精氨酸甲酯（TAME）为底物时，最适pH为9.0，比自由酶高一个pH单位。在温度55℃时不失活，即使在70℃过夜活性仍无明显损失。最适酶反应温度55℃。经此酶固定化的琼脂糖在98℃不熔化，而一般琼脂糖在75℃熔化。

理化参数 酶活性每克琼脂糖为30单位。

酶活性单位定义 在pH7.5和37℃条件下，每分钟水解干酪素产生1.0μmol(181μg)的酪氨酸称1个活性单位；酪氨酸用福林-酚试剂（Folin-Ciocalten）法测定。

制备方法[1] 溴化氰活化琼脂糖的制备参阅琼脂糖固定化乙醇脱氢酶（Ⅱ-2(3)-0001）有关部分。

酶偶联反应 30mg蛋白酶溶于5mL pH9.1的0.1mol/L硼酸缓冲液中，加入到100mg干重的已溶胀的溴化氰活化琼脂糖中，室温下缓缓搅拌反应20小时，抽滤除去反应液，沉淀悬浮于含有1mmol EDTA的pH8.0的0.01mol/L Tris缓冲液中，装成小柱，用上述缓冲液洗涤除去残留的酶，而后取出，固定化酶悬浮于含有0.02%叠氮钠的50%的乙二醇中。

贮存 低于0℃。

参 考 文 献

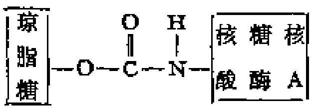
〔1〕 Axen, R. and Ernback, S.: *Eur. J. Biochem.*, 18, 351(1971).

琼脂糖固定化核糖核酸酶A　　Ⅱ-2(3)-0015

Immobilized Ribonuclease A on agarose

别名 Insoluble ribonuclease A on agarose

结构式



理化性质 固定化酶的相对活性因蛋白偶联量的不同可从60～15%变化；当溴化氰的量不同时，蛋白偶联量也不同。当酶和基质间的键增加时，热稳定性会增高，固定化酶的热稳定性高于自由酶。

理化参数 酶活性为每克琼脂糖600单位。

酶活性单位定义 在pH 6.5和25℃时，用2′3′-环胞嘧啶一磷酸作为底物，每分钟反应0.5μmol称1个（Kunitz）单位。

制备方法[1]

一、1.5g溶胀后的Sepharose CL 4B加到10mL冷的（4℃）水溶液之中，该溶液含有250mg溴化氰；激活在pH10.8～11的条件下进行5分钟，用0.2～4mol/L氢氧化钠维持pH。激活的珠状琼脂糖用0.25～1L pH8.4的0.1mol/L冷的碳酸氢钠溶液洗涤。

已激活的珠状琼脂糖400mg转移到1mL酶液中，酶液的浓度为15mg/1mL 0.1mol $NaHCO_3$，pH8.4，偶联反应在4℃进行14小时，反应时温和搅拌。偶联完成后抽滤除去反应液，用0.5mol/L氯化钠洗涤，而后再用1mmol/L盐酸洗涤，再用蒸馏水洗涤，最后可用0.1mol/L磷酸缓冲液pH7.25和1mol/L氯化钠洗涤，固定化酶可悬浮于pH7.0，2.0mol/L

硫酸铵中贮存。

二、溶胀的Sepharose 4B 1mL于0.1mol/L pH6～8的磷酸缓冲液中，50mmol苯醌于20%乙醇的上述相同缓冲液中，将两溶液混和，在室温下进行1小时的激活反应，反应完毕后抽滤除去反应液，用20%乙醇洗涤数次，再用水洗数次，而后用1mol/L氯化钠洗涤数次，最后用水洗涤除去氯离子，沉淀悬浮于0.1mol/L pH4.5的乙酸钠缓冲液中，加入0.02%叠氮钠，室温贮存。

将3mL激活的琼脂糖悬浮于3mL 0.1mol/L碳酸氢钠pH8.0溶液中；酶溶于上述相同的缓冲液中，然后两者相混和，偶联反应于密闭的管中，管子在摇床上缓缓搅动，整个反应在4℃进行24小时，反应完毕后，抽滤除去反应液，而后用水快速洗涤数次，取出沉淀装在一柱上，用含1mol/L氯化钾的0.1mol/L乙酸钠pH4.0洗涤24小时，最后再用水洗涤除去氯离子，取出沉淀后按方法一贮存；或用0.01mol/L乙酸钠缓冲液pH4.7和0.02% NaN_3贮存，在4℃时，三星期内酶活性不下降。

贮存 低于0℃。

参 考 文 献

〔1〕 Brandt, J. Andersson, Lars-Olov and Porath, J.: *Biochim. Biophys. Acta.*, 385, 196(1975).

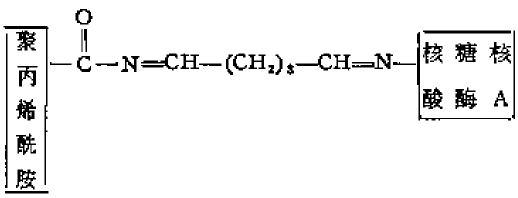
聚丙烯酰胺固定化核糖核酸酶A

Ⅱ-2(3)-0016

Immolibized ribnuclease A on polyacrylamide

别名 Insoluble ribnuclease A on polyacrylamide

结构式



理化参数 酶活性为每克固体150单位。

酶活性单位定义 在pH 6.5和25℃时，用2′,3′-环胞嘧啶一磷酸作底物，每分钟反应0.5μmol为1个单位。

制备方法[1] 按照固定化乙醇脱氢酶的方法制备珠状聚丙烯酰胺，而后与戊二醛反应。

珠状聚丙烯酰胺1mL于40℃用1mL的6%戊二醛的pH7.4 0.2mol/L磷酸缓冲液搅拌下缓缓反应14小时，抽滤除去反应液，沉淀用冰水洗一次，取出沉淀后悬浮于水中，保持4℃，每4小时倾滗换水1次，换数次后，无游离的戊二醛存在，最后抽滤除去蒸馏水，沉淀取出后加入到含有160单位核糖核酸酶A的2mL pH7.4的0.1mol/L磷酸缓冲液之中，在4℃，进行3小时的偶联反应，反应完毕后抽滤除去反应液，用0.1mol/L碳酸氢钠洗涤数次，然后取出沉淀，依次分别用0.1mol/L $NaHCO_3$，0.5mol/L盐酸和蒸馏水搅拌1小时，每次换洗涤液时将已洗涤过的溶液抽滤除去。最后用pH8.0的0.1mol/L磷酸缓冲液洗涤，取出沉淀后悬浮于硼酸缓冲液中贮存。

贮存 低于0℃。

参考文献

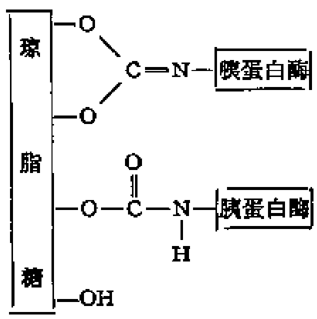
〔1〕 Johansson, Ann-Christin and Mosbach, C.: *Biochim. Biophys. Acta.*, 370, 339, 348(1974).

琼脂糖固定化胰蛋白酶　Ⅱ-2(3)-0017

Immobilized trypsin on agarose

别名　Insoluble trypsin on agarose

结构式



分子量　24000

理化性质　在25℃一个月或40℃一周内不会引起活性改变。在70～90℃1小时后，酶失活，待温度下降到室温后，几乎全部恢复酶活性。10mol的脲加入后酶活性几乎全部损失，但除去脲后活性几乎全部恢复，固定化酶抗脲变性作用强于自由酶。在非缓冲条件下，底物为TAME时，最适pH升高到9.7；底物为酪蛋白时pH不变。偶联后酶蛋白量为每克琼脂糖凝胶16mg。

理化参数　酶活性为每毫升凝胶60单位。

酶活性单位定义　用滴定仪测定法在30℃和pH8.0时，每分钟水解1.0μmol的BAEE称1个活性单位。

制备方法[1]

1．溴化氢活化琼脂糖的制备　珠状琼脂糖Sepharose 4B用蒸馏水充分溶胀后，再洗涤数次，抽滤除去多余的水分，在相当于100mg干重的溶胀胶中，加入5mL蒸馏水和4mL溴化氢溶液，在pH11和4℃下激活10分钟，而后快速抽滤除去反应液，用蒸馏水洗涤到pH中性待用，如果要较长时间贮存，可用丙酮脱水，使用前再溶胀。

二酶的偶联反应　偶联酶的反应在碱性条件下4℃时进行，将溴化氰活化的琼脂糖100mg，用缓冲液洗涤后，抽滤除去溶液，而后转移到带塞的试管中，加入新鲜配制的5mL含有70单位酶活的偶联缓冲液，而后在摇转床上缓缓搅动反应4小时，偶联反应完成后，酶胶用1小柱装好，再以8mL/h速度洗涤，以除去吸附在凝胶上的胰蛋白酶，洗脱次序为：pH10～11的三磷酸钠缓冲液，洗脱3小时。0.1mol/L的硼酸缓冲液（pH8.5）洗脱24小时。0.1mol/L乙酸钠缓冲液（含1mol/L氯化钠）pH4.1洗脱16小时。0.1mol/L碳酸氢钠溶液（含15g甘氨酸/L）洗脱9小时。0.1mol/L硼酸缓冲液（含1mol/L氯化钠）pH8.5洗16小时。0.1mol/L乙酸钠缓冲液（含1mol/L氯化钠）pH4.1洗脱8小时。0.01mol/L乙酸钠缓冲液pH4.1洗脱24小时。洗脱完毕后取出沉淀。

贮存 低于0℃。

参 考 文 献

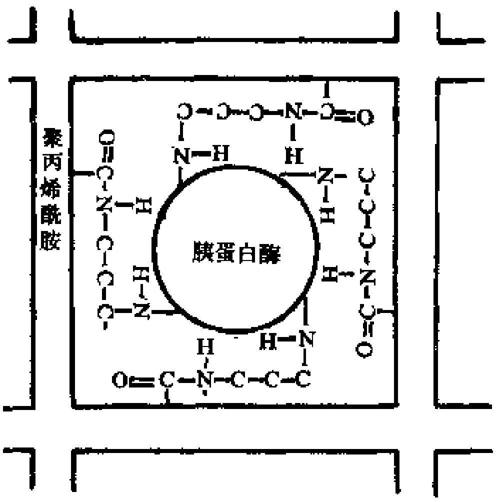
〔1〕 Axen, R. and Ernback, S.; *Eur. J. Biochem.*, 18, 351(1971).

聚丙烯酰胺固定化胰蛋白酶 Ⅱ-2(3)-0018

Immobilized trypsin on polyacrylamide

别名 Insolubile trypsin on polyacrylamide

结构式



分子量 24000

理化性质 当酶浓度小于 10^{-7} mol/L 和氯化钙为 10^{-2} mol/L 时，酶的失活与酶本身浓度无关；如果60℃加热3小时，仍可有70%的酶活性，固定化酶比自由酶抗热性(60～102℃)强10^{3}～10^{8}倍；在25～75℃范围内有高的催化活性，并且在30分钟内没有变化。

理化参数 酶活性为每克固体200单位。

酶活性单位定义 在pH8.0和30℃时，每分钟水解1.0μmol BAEE称一个活性单位。

制备方法[1]

1. 酶的丙烯醛修饰 酶溶于10^{-2}mol/L硼酸缓冲液中，形成5×10^{-4}mol/L的酶液，溶液中含1%的丙烯醛，10^{-2}mol/L的氯化钙，并加入30%的丙烯酰胺，防止修饰酶产生沉淀，于4℃下作用3小时，酶活性降低，但不会低于原活性一半。

2. 修饰酶的化学包埋 将3×10^{-5}mol的上述修饰酶溶于0.2mol/L磷酸缓冲液中，加入30%丙烯酰胺和15%甲叉双丙烯酰胺，以及30mg/L核黄素，混合物置小试管中于0℃下，300W的碘钨灯照射1小时，聚合成凝胶，取出后研成粉状，再用水洗涤数次，而后将胶悬浮于硼氯化钠（1mg/mL）的溶液中，缓缓搅拌处理1小时，使西佛（Schiff）碱双键还原。然后多次洗涤除去反应残余物，固定化酶活但不少于天然酶的50%。

用途 固定化胰蛋白酶可用于抑肽酶的工业生产。

贮存 低于0℃

参 考 文 献

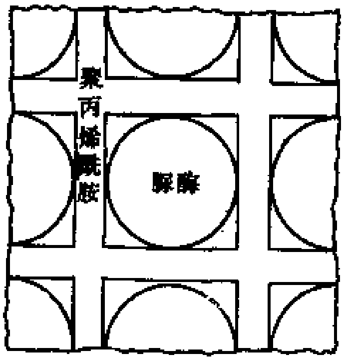
〔1〕 Feeney, R. E.; Blankenhorn, G. and Dioxn Henry, R. F.: "Adv. protein Chem". Vol. 29, 135, Academic Press, 1975.

聚丙烯酰胺固定化脲酶　　Ⅲ-2(3)-0019

Immobilized urease on polyacrylamide

别名 Insoluble urease on polyacrylamide; Insoluble urease amidohydrolase on polyacrylamide

结构式



理化性质 酶在凝胶中的浓度对催化活性有影响，含有2mg酶（酶活性5单位）/胶环时，为最佳催化剂，表观$K_m = 5\times10^{-3}$mol（自由酶为4×10^{-3}mol）。在固定化过程中酶活性损失20%，冷冻情况下24个月活性损失3%；4℃湿态贮存80天酶仍稳定。

理化参数 每克固体50～60单位。

酶活性单位定义 在pH7.0和30℃条件下，每5分钟从脲素中产生1mg氨基氮称一个活性单位。

制备方法[1] 本法为格子型包埋法：4mL 4%丙烯酰胺和16mL 2.3%甲叉双丙烯酰胺都用0.1mol/L pH7.4的Tris缓冲液配制，而后100～120mg的酶溶子甲叉双丙烯酰胺的溶液中，冰浴冷却，充氮除去氧10分钟，然后将两种溶液混合，加入0.03mg核黄素，光照聚合，在聚合过程中继续通氮，反应湿度保持在10℃以下。聚合后的胶铺于塑料衬膜上，制成环后冷冻干燥，冻干后形如破裂，但在缓冲液中30分钟，可成为一完整环形。

贮存 0～5℃。

参 考 文 献

〔1〕 Gnibantt, G. G, and Das, J.: *Anal. Biochem*, 33, 341(1970).

第三章　非酶蛋白质

第一节　非酶蛋白

肌动蛋白（兔肌）　　Ⅱ-3(1)-0001

Actin (rabbit muscle)

别名　G-Actin

分子量　41785或42300（包括腺三磷和钙离子）

理化性质　肌动蛋白是一种直接涉及化学能向机械能转变的蛋白质。在肌肉收缩中，肌动蛋白与肌球蛋白反应。它与肌球蛋白有超沉淀作用，在低离子强度时，能激活肌球蛋白腺三磷酶活力，在高离子强度时，加入腺三磷引起它的解聚。可逆性的聚合是对它纯化的一个重要性质。

肌动蛋白通常是以可溶性的球蛋白单体，G-型，被抽提出来。G-型可逆地能变成粘的、多聚的F-型，反应式如下：

$$\text{G-肌动蛋白-腺三磷}\ \underset{\text{中性或稍碱}}{\overset{\text{中性盐}}{\rightleftharpoons}}\ \text{F-肌动蛋白腺二磷}+\text{无机磷}$$

冷冻干燥粉末。硫酸十二酯烷钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳检测其纯度90%以上。

制备方法[1]　肌动蛋白的纯化。取兔子背部和腿部肌肉的丙酮粉10 g，在0℃时，用200 mL缓冲液A（2mmol/L Tris-Cl，0.2 mmol/L ATP，0.5 mmol/L β-巯基乙醇和（0.2 mmol/L氯化钙；最终pH8.0在25℃）抽提30分钟，并通过粗的砂芯漏斗过滤。残渣用100mL缓冲渣A洗涤并过滤，合并上清液，离心（10000×g，1小时）得粗抽提液；约含400mg蛋白。氯化钾（使成50mmol/L）和氯化镁（使成2mmol/L）加入到肌动蛋白中，聚合2小时。然后加氯化钾成0.6mol/L（这是关键的一步）；溶液温和地搅拌1.5小时，然后离心（80000×g，3小时）。沉淀重悬浮于30mL缓冲液A中，剧烈搅拌下对缓冲液A透析3天，每24小时换新的外透液。G-肌动蛋白离心（80000×g，3小时）使清，在50mmol/L氯化钾中聚合，得纯化肌动蛋白，约200mg。

此制剂1周内可用，有时保存于4℃（内加1颗麝香草酚可防止细菌生长）可达3周而对肌动蛋白-活化HMM腺三磷酶的比活没有损失。

贮存　在+5℃。

参考文献

〔1〕Spudich J. A. and Watt S. *J. Biol. Chem.*, 246, 4866(1971).

牛血清白蛋白　　Ⅱ-3(1)-0002

Bovine serum albumin

别名　BSA；Albumin；60vine serum

分子量 68000

理化性质 占血浆蛋白的60%。渗压调节和把不大溶解的代谢产物从一个组织运到另一个组织有关，特别是在游离脂肪酸运输中。结构上由一个不含糖的多肽链连接四个不等大小的球状部分所组成，它由17对硫-硫桥所稳定。它有成为二聚体的趋势。在pH7.4时，净电荷为18。高溶解度，在pH7.4时能制得40%溶液。低粘度。高温也稳定。

理化参数 PI4.6～4.7；$A_{280}^{1\%}$5.8±0.3

制备方法[1] 到屠宰场收集新鲜牛血，容器内预先放入柠檬酸钠（0.5%），离心（3000转/分钟，30分钟）。红血球可留作制备血红蛋白用。

上清液血浆加硫酸铵达饱和度0.51。搅匀后放置过夜，过滤，沉淀含纤维蛋白及球蛋白。

清液加2mol/L乙酸调pH至4.7，加硫酸铵达70%饱和，吊滤过夜。

滤并加水溶解，对水透析，用折迭滤纸过滤，沉淀为拟球蛋白。

清液加辛酸钠，在70℃保温30分钟去除杂蛋白，快速冷却。所得浑浊液加硫酸铵饱和度达0.50，放置过夜。离心或过滤，棕色沉淀弃去。

清液加硫酸铵饱和度达0.70，吊滤过夜得滤并，加水溶解，透析，过滤后即得牛血清白蛋白清液，冷冻干燥得成品。得率每100mL血清可得1g成品（1%，以血清计）。

成品的水分低于5%；溶解度大于1%；含氮量大于13.5%。

贮存 0～+5℃。

参 考 文 献

〔1〕 余进保，贾莉：生化药物杂志，29，6(1984)。

卵 白 蛋 白 Ⅱ-3(1)-0003

Albumin, chicken egg

别名 卵清蛋白 Ovalbumin

分子量 43000；约45 000（从渗透压和沉降常数求得之平均值）

理化性质 卵白蛋白含约3.2%碳水化合物，属于糖蛋白。在卵蛋白中液度约为7.5mg/mL，并代表总蛋白的约65%。

理化参数 PI4.58。磷含量<2分子/分子蛋白。

制备方法[1] 鸡蛋白加入硫酸铵至50%饱和度以除去不溶解的杂蛋白。过滤，清液再加入饱和硫酸铵直至出现很微弱的浑浊为止。当溶液的pH降至4.8时，卵白蛋白开始结晶。

贮存 +4℃。

参 考 文 献

〔1〕 Neurath H: "The Proteins", Vol. Ⅳ, Acalemic Press, New York and London, 113, 1966.

甲 基 白 蛋 白（牛） Ⅱ-3(1)-0004

Albumin bovine methylated

别名 Methyl ester of bovine albumin

理化性质 在pH6.0容易并完全溶于水。电泳均一。

制备方法[1]

1. 悬浮5g牛血清白蛋白第Ⅴ部分于500mL绝对甲醇中。

2. 加4.2mL12mol/L盐酸。白蛋白先溶解，随后沉淀。

3. 把悬浮液置黑暗处，不时振摇，室温放3天或更长时间。注意不要放在冷室。

4. 离心收集沉淀蛋白。用250mL离心杯。

5. 用离心法以无水甲醇洗涤蛋白质，直至洗液不再是黄色（通常2或3次）。

6. 用无水乙醚洗2次。在离心杯内洗涤。

7. 先在空气中蒸发大部分乙醚，再在氢氧化钾上真空干燥。

干燥的甲基白蛋白粉末很易溶于水中。它在干燥器内（氢氧化钾作干燥剂）几乎可长期保存。

此蛋白质常以1%水溶液被使用。

用途 制备核苷酸分级用柱（甲基白蛋白硅藻土）。

贮存 0～+4℃。

参考文献

〔1〕 Grossman L. and Moldave K. "Methods in Enzymology", Vol. XIIA, Academic Press, New York and London, 679, 1967.

脱铁铁蛋白 Ⅱ-3(1)-0005

Apoferritin

分子量 约445000；440000～465000（沉降-扩散法）

理化性质 是铁蛋白的蛋白外壳。

制备方法[1]

1. 马脾铁蛋白（6次结晶，91mg/mL，或2次结晶，106mg/mL），或按Hoppe-Seyer's, *Z. Physiol. Chem.* 290,156(1952)制备。

2. 脱铁铁蛋白从马脾铁蛋白制得，采用Granick, *J. Biol. Chem.*, 147,91(1943)方法。

进一步纯化用蔗糖密度梯度离心法如下：等动力梯度，颗粒密度1.33，蔗糖始起浓度为5%，使用30mL管子，以及特殊酶等级的蔗糖。每一梯度上加一层0.6～0.8mL的脱铁铁蛋白溶液，其浓度约为20mg/mL。离心在Spinco L型超离心机水平转子，s_w25.1下进行，20小时，24000转/分，5℃。转完后，每管的底部用注射针刺入，把流出液收集于1mL的部分中。

蔗糖梯度密度离心把脱铁铁蛋白与杂质分离。原始材料中的黄色杂质集中在管子的底部，而没有被洗脱下来。回收率至少是上柱量的80%。

取峰尖部分，用聚丙烯酰胺凝胶电泳分析，发现它在pH9.5和3.3仅含少量（0.5%）慢速杂质。沉降实验说明它是均一的，s为16.8 S，蛋白浓度7mg/mL。这说明它含高度纯化α-脱铁铁蛋白。

参考文献

〔1〕 Björk I. and Fish W. W.: *Biochemistry*, 10, 2844(1971).

抗生物素蛋白（卵清）　　Ⅱ-3(1)-0006

Avidin (egg white)

分子量　68 000

理化性质　抗生物素蛋白是存在于卵清中的一种糖蛋白。以计算量与生物素结合。由4个相同的多肽链组成。亚基含128个氨基酸残基。碳水化合物部分，每一个亚基有4个氨基葡糖和5个甘露糖，是连到第17位的天冬酰胺残基上。保存于+5℃，6个月内稳定。蒸煮或照射可使之破坏。

单位定义　1个单位与1μg d-生物素在pH8.9结合。

最好的制剂结合15.1μg d-生物素/mg蛋白，相当于mol生物素结合/mol蛋白。生物素的解离常数约为10^{-15}mol/L。生物素-抗生物素蛋白络合物与介质的离子强度有关，在一广泛的温度和pH范围内是相对地稳定。需要引起可逆或不可逆变性以释放生物素的解离条件相应地是6～8mol/L盐酸胍在pH1.5和在120℃高压灭菌器内15分钟。

理化参数　$A_{282}^{1\%}$15.5。

制备方法[1]　碱性蛋清蛋白在羧甲基纤维素上吸附。冻结蛋清（84磅）解冻，每批5 L和等体积的去离子水成匀浆。离心（1200×g，20分钟）。用1mol/L硫酸调pH至7.0，加羧甲基纤维素滤饼（3kg，15%干重），搅拌10分钟。放置数小时后，上清液从羧甲基纤维素虹吸出，与离心（1200g，10分钟）后的上清液合并。再加羧甲基纤维素（1.6kg），重复此步骤。合并的羧甲基纤维素部分悬浮于足够量的乙酸铵（0.05mol/L，pH7）使成厚浆状，倒入大的布氏漏斗（30cm）中，不铺滤纸，不抽滤使沥干。滤饼靠重力依次用乙酸铵（0.05 mol/L，pH7，10L；0.05mol/L pH9，15L），碳酸铵（0.3%，5L）洗涤。滤饼轻轻抽滤并悬浮于碳酸铵（0.3%，12L）中。

悬浮液抽去气泡，倒入9cm×100cm柱内，装柱时，减少总压头至3.92×10^{3}Pa以限制流速。柱装备向上流的装置，用碳酸铵（0.4%，15L）洗涤过夜。洗脱用阶式梯度（0.5，0.6，0.7，0.8，0.9，1.0和3.0%的碳酸铵；每一种1.5L）；流速20mL/min。每一份300mL。每份测A_{280}和抗生物素蛋白含量。合并在第一峰中，含有产物部分。羧甲基纤维素的再生：用4%碳酸铵在1mol/L氨（10L）和0.5mol/L氯化钠（10L）混合液洗涤。要把柱拆装，最后用0.05mol/L乙酸铵（15L）洗，在大型布氏漏斗中进行。

溶菌酶（40mg/mL）用3%碳酸铵洗脱，用2mol/L氢氧化钠提高pH至10，并加氯化钠（5%，以重量计）可得约100g结晶。

合并抗生素蛋白（7L）用乙酸（50%）酸化至pH6.0，抽去气泡，上羧甲基纤维素柱（6.5×80cm）。柱用线性梯度碳酸铵（0.5～4.0%在5L总体积中）洗脱。抗生物素蛋白在第一峰中（580mL，1.5mg/mL），真空透析浓缩约6倍。

浓缩抗生物素溶液用2mol/L乙酸酸化至pH5.0，加硫酸铵（41.8g/100mL）使达2.5 mol/L。混合液放置过夜后，离心（12000g，20分钟），弃去沉淀。缓慢搅拌加入硫酸铵（9.29g/100mL溶液），使最后浓度为3.0mol/L。结晶（薄片状）在几小时内完成，此时再搅拌加入10g硫酸铵/100mL溶液，使最后浓度达3.5mol/L。4℃24小时后，结晶过滤，用少量3.5mol/L硫酸铵洗涤。抗生物素蛋白重溶于水（10～20mg/mL）中，重新分级。产物溶于2.5mL水，对无离子水透析，冷冻干燥。

贮存　+5℃，6个月内稳定。

参 考 文 献

〔1〕 GreenN. M. and Toms E. J.: *Biochem. J.*, 118, 67(1970).

偶氮酪蛋白 Ⅱ-3(1)-0007

Azocasein

理化性质 红-橙色化合物，最大吸收值在440nm。灰份5～10%；干燥失重5～7%。

制备方法[1] 溶液A，50g重沉淀的、不含脂肪的酪蛋白在搅拌下溶于1L含10g碳酸氢钠的水中。溶液B，5.0g对氨基苯磺酰胺溶于200mL含6.0mL的5.0mol/L氢氧化钠的水中。加入2.2g亚硝酸钠。搅拌下在溶液中加18.0mL 5mol/L盐酸，继续搅拌2分钟。然后加入18.0mL 5mol/L氢氧化钠；此溶液在搅拌均匀后一下子搅拌加入溶液A中。

偶氮蛋白质酸化至pH4.5后沉淀，用水和乙醇洗涤，并空气干燥。

用途 测定蛋白水解酶的底物；测定牛奶中血纤维蛋白溶酶和其他蛋白酶的底物。

贮存 0～+4℃。

参 考 文 献

〔1〕 Charney J. and Tomarelli R. M., J.: *Biol. Chem.*, 171, 501(1947).

碳氧血红蛋白（红细胞） Ⅱ-3(1)-0008

Carboxyhemoglbin (erythrocytes)

别名 HbCO

制备方法[1] 新鲜采集的血用肝素处理（10mg肝素/100mL血），在冷室离心（3000转/分钟，1小时），除去血浆及白细胞。挤满的红细胞用5倍其体积的0.9%氯化钠洗涤5次，每次洗涤后离心（3000转/分钟，15～30分钟）。最后一次洗完后，加入2倍体积的水和$\frac{1}{2}$倍体积的甲苯。混合物剧烈振摇并放置冷室中过夜。次日再振摇，离心（3000转/分钟，1小时）。用注射器抽取甲苯与基质之下的清溶液，重新离心（9000转/分钟）以除去留下的血影细胞。上清液对10^{-4}mol/L EDTA透析24小时（换3次，并调节至pH7.4）。透析过的血红蛋白溶液用一氧化碳饱和后，在冷处一氧化碳气压下保存。血红蛋白浓度以氰合高铁血红蛋白测定。

贮存 0～+5℃。

参 考 文 献

〔1〕 Brown G. B: "Biochemical Preparations", Vol. 10, John Wiley and Sons, Inc., New York, London, Sydney, 66, 1963.

酪蛋白（牛奶） Ⅱ-3(1)-0009

Casein(Milk)

理化性质 酪蛋白是牛奶的主要蛋白，含磷蛋白质。它由α-，β-，γ-酪蛋白（分别占75%，

22%和3%）所组成。β-可以利用其在pH4.4和2℃时较大的溶解度从α-酪蛋白中分离出来。

α-酪蛋白由2个主要部分组成：$α_s$-酪蛋白，能用钙离子沉淀和K-酪蛋白，对钙不敏感。$α_s$-酪蛋白在电泳上又可分离出$α_{s1}$，$α_{s2}$和$α_{s3}$部分。占优势的组分$α_{s1}$的特点是在Ca^{2+}或其他二价离子的存在下的不溶解性。其分子量23600。K-酪蛋白是糖蛋白，含$S-S$-键可计算为全酪蛋白的15%。其单体分子量为约20 000。

理化参数 PI约4.7。+5℃保存，稳定1～2年。

制备方法[1] 在~12L圆底烧瓶内放入1.4L脱脂乳和8.5L蒸馏水。混合物剧烈搅拌，用30分钟缓慢加入0.5mol/L盐酸使pH达4.8（约需150mL）。当达合适pH时可观察到悬浮液。混合物搅拌10分钟，悬浮液沉下1小时，用虹吸法除去上清液。

把上述操作或4次所得的残渣移入~12L圆底烧瓶内，加入蒸馏水至约10L，混合液剧烈搅拌5分钟。量浮液沉下，虹吸除去上清液。重复洗涤，总共洗4次。

合并六或七次沉淀的残渣，用25cm布氏漏斗盖以两层滤纸，上面加一层硬质无棉绒滤纸抽气过滤。抽至大部分的水除去，但不能完全抽干。夏天30分钟已足。潮的残渣移入5L圆底烧瓶内，加入2.5L蒸馏水，混合物剧烈搅拌5分钟，悬浮液同前法过滤。重复洗涤步骤2次或直至滤液测不出氯离子。残液悬浮于2L 95%乙醇中，混合物剧烈搅拌5分钟，悬浮液同前法过滤。重复洗涤2次。残渣悬浮于2L无水乙醇中，混合物剧烈搅拌5分钟，悬浮液同前法过滤。再重复此洗涤步骤两次。残液悬浮于2L乙醚中，混合物剧烈搅拌5分钟，悬浮液同前法过滤。重复此洗涤步骤，纯化的酪蛋白置入带盖的大型蒸发皿内过夜以除去乙醚和使水分平衡。产物为白色，流动性良好的粉末。7次沉淀可得纯化酪蛋白198g。

产物的纯度为含水分6.2%，灰分0.55%，磷0.59%，和氮14.5%。

贮存 +5℃，稳定1～2年。

参 考 文 献

〔1〕 Carter H. E: "Biochemical Preparations", Vol. 1, John Wiley & Sons, Inc., New York; Chapman & Hall, Limited., London; 22～24, 1949.

胶 原 蛋 白　　Ⅱ-3(11)-0010

Collagen

分子量 300 000

理化性质 胶原蛋白是一惰性的，僵硬的蛋白质，存在于皮，韧带，骨和齿中。它的最有特色的品质是不可伸缩性。它的基础结构单位是原胶原蛋白，分子呈棒状约2600Å，15Å直径。白色，容易分散的粉末。

带有有限交联度的胶原纤维在稀酸或中性盐的浓溶液中能溶解至一定程度。溶于0.075mol/L柠檬酸钠（pH4.3～4.5）缓冲液的小牛皮胶原蛋白，用0.5mol/L磷酸钠滴定至pH7.0并加温至37℃能反复地转变成一稳定的凝胶。

制备方法[1] 新鲜老鼠尾巴腱或牛踵腱清除非胶原性组织，切成小块，用3%磷酸氢二钠在0℃抽提6天，换几次抽提液以除去可溶性蛋白质。为了除去粘多糖，这些腱再用25%氯化钾溶液在0℃抽提6天。残留物用水充分洗涤，用无水乙醇脱水，并空气干燥。这样的制剂含灰分（$SO_4^=$）少于0.2%，含氨基已糖少于0.1%。

用途 这些凝胶，铸成膜或固体，可用作固定化酶的支持物。它可用作胶原蛋白酶的

底物。

贮存 0～+5℃。

参 考 文 献

〔1〕 Embinder J. and Schubert M., *J. Biol. Chem.*, 188, 335(1951).

氰血红蛋白 Ⅱ-3(1)-0011

Cyanhemoglobin

制备方法[1] 氰高铁血红蛋白能用下列方法很快地制得：混合1份体积的1 mmol/L血红蛋白溶液和2份体积的Drabkin[注]氏试剂并在冷中保温5分钟。

贮存 0～+4℃。

参 考 文 献

〔1〕 Iorio E. E. D.: "Methods in Enzymology", Vol. 76, ed. by Antonini E. et al., Acedemic Press, New York, London, Toranto, Sydney, Sam Francisco, 66, 1981.

麻仁球蛋白 Ⅱ-3(1)-0012

Edestin (hempseed)

分子量 约300 000

理化性质 白色八面体结晶。在10%盐溶液中完全溶解成为清溶液。溶于稀矿物酸中，其盐酸盐为水溶性的。蛋白质含氮18.42%，硫0.99%，灰分0.42%。

制备方法[1] 4 kg空气干燥的种子在绞肉机内磨碎，机刀先用最粗的刀片，再用细一点的。种子要不断地小量加入机器内。快速加入种子将会阻塞机器。粗粉混匀进12 L 30～35℃的10%氯化钠溶液中。加入足够量的滤纸碎成纸浆的悬浮液中，然后进行压滤，逐步增加压力。弃碎滤饼，用8 L温盐溶液湿润后，再压滤一次。浑浊的抽提液（约16 L）置搪瓷桶内，快速加热至75℃水浴中以凝固少量的白蛋白样的蛋白质。然后，移至大烧瓶或玻璃瓶中，放置过夜待脂肪乳化和凝固的蛋白浮起来。从乳化层之下把仍然浑浊的溶液虹吸出，并在布氏漏斗上通过约5cm滤纸浆过滤，用水充分洗涤，然后，再用10%氯化钠溶液洗涤。在真空下应该缓慢地抽滤，而且不应小于1.73×10^4Pa否则滤液会浑浊或漏斗阻塞。

含脂肪的乳化液离心，尽可能取得水相并加至漏斗中。当全部滤完，清滤液取出，其余的乳化液用少量洗瓶子和离心杯的盐溶液稀释后加到漏斗内。漏斗最后用少量盐溶液洗涤。滤液可能是浑浊的，可在小纸浆漏斗上过滤。

滤液应为完全清的浅黄色，但它有丁铎尔效应。温热至60℃并用4倍的60℃的水稀释后，在冷室冷却过夜。上清液除去，收集沉淀的蛋白质（折迭滤纸）。重结晶：含有蛋白质的滤纸用足够量的10%盐溶液使成浆，溶液用盐溶液稀释至原来抽提液体积的2/3。同前用纸浆过滤，并再在60℃用4倍60℃的水稀释。重结晶可按需要重复数次。

[注]该试剂通常用以测定血和其他体液中的血红蛋白，配制方法是溶解1g碳酸氢钠，50mg氰化钾和200mg高铁氰化钾于水中，并配成1 L。注意氰化物极端有毒，在酸性情况下尤其危险。

蛋白质用硬滤纸收集后，用30%乙醇洗涤。在大规模操作中，更方便的是在此溶剂下收集几批的产物。洗涤是通过把制剂反复地悬浮于30%乙醇中，进行直至滤液不含氯离子。蛋白质最后用95%乙醇洗2次，并在它还稍潮湿时用刷子使之通过筛子成粒状。在盘上铺成薄层使干并与大气潮气平衡1或2天。产量500g（10～12%）。

贮存 0～+4℃。

参 考 文 献

〔1〕 Ball E. G.: "Biochemical Preparations", Vol. 2, John Wiley and Sons, Inc., New York; Chapman and Hall. Limited, London, 5, 1952.

弹 性 蛋 白 Ⅱ-3(1)-0013

Elastin

分子量 30 000以上

理化性质 弹性蛋白是在大动脉、气管、支气管和韧带的结缔组织的细胞间空间发现的不溶解的、具有高度可引伸的力量的弹性蛋白。弹性蛋白不被胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶或胃蛋白酶所水解，但能被一些微生物和植物蛋白水解酶（菠萝蛋白酶，无花果蛋白酶和木瓜蛋白酶）所作用，是弹性蛋白酶的底物。

纯化的弹性蛋白为淡黄色，在紫外光下呈蓝色荧光。对酸和碱水解有抗性。实际上不溶于广泛的破坏氢键的溶剂直至100℃，只是膨胀，但不溶解于苯酚性溶剂。实际上不可能使弹性蛋白成为溶液，除非用水解试剂，它可以破坏肽键。含有不多的羟脯氨酸，但含约1.5%酪氨酸；低含量的酸性和碱性氨基酸（1%），富含单羧基-单氨基酸(甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸和脯氨酸)，特别是缬氨酸（17.5%）。

理化参数 折射指数 1.534。

制备方法[1] 新鲜的韧带绞碎，用1%氯化钠溶液抽提，除去血清的蛋白质，并在1大气压（101325Pa）下高压灭菌45分钟直至抽提的介质不再对双缩脲试验呈阳性。这通常需要3或4次抽提。经过用乙醇脱水后，用1:1乙醇-乙醚抽提，产物干燥，并机械研磨成粉。此物质几乎全是由分散的、平滑的、直径约为6.5μ的棒状纤维所组成。它具有弹性蛋白的典型染色点。分析结果：氮16.8%，硫0.2%，磷<0.02%。和蒽酮试剂产生颜色相当于0.17%葡萄糖。它含氨基葡萄糖或氨基半乳糖<0.05%。

韧带或动脉的弹性蛋白可以从干燥的、去脂肪组织中制得。用0.1mol/L氢氧化钠在95℃处理至少45分钟以除去胶原蛋白和肌肉蛋白。这样制得的弹性蛋白不被结晶胰蛋白酶所消化，具有折射指数1.534。制自主动脉的制剂与蒽酮。

试剂得阳性反应，但制自韧带的弹性蛋白则不产生阳性反应。

贮存 0～+4℃。

参 考 文 献

〔1〕 Seifter S. and Gallop P. M.: "The Proteins", Vol. Ⅳ, Academic Press, New York and London, 183～184, 1966.

铁蛋白（马脾）　Ⅱ-3(1)-0014

Ferritin(horse spleen)

分子量　脱铁铁蛋白450 000

理化性质　三次结晶，晶体为菱形或六角形。不含镉，溶于水中，经过消毒或保存于半饱和硫酸铵溶液中。含铁22%，镉0.05%，蛋白质75%；凝胶层析均一。

理化参数　pI4.1～4.6。+4℃稳定，但不得冻结！

制备方法[1]　取新鲜马脾，去掉被膜和脂肪，先用刀切成小块，然后用绞肉机制成匀浆。每kg匀浆加蒸馏水1.5L，在水浴里边加热边搅拌至79℃，停止加热并立即冷却至50℃以下。离心（3000转/分钟,30分钟），取棕色上清液，沉淀用少量蒸馏水（每kg马脾之沉淀用500mL温水）洗1次再离心。合并两次上清液，每100mL上清液加固体硫酸铵35g，缓慢加入，边加边搅拌，棕黄色沉淀出现，置4℃过夜。小心倾弃部分上清液，再离心（3000转/分钟，30分钟），取棕黄色沉淀，用少量半饱和硫酸铵溶液洗1次，用蒸馏水使沉淀全部溶解（每kg马脾沉淀物加蒸馏水600mL），离心（3000转/分钟，30分钟），除去不溶物，每100mL上清液加固体硫酸铵5g，缓慢加入，边加边搅拌，立即出现浑浊，待硫酸铵全部加完后再搅拌5～10分钟。4℃放置1～2天后，从容器壁上可看到棕红色结晶，而大量的却是无定形沉淀。用滴管从底部吸出一点溶液于载玻璃片上，在低倍显微镜下可见六角形，菱形等棕色结晶，此溶液离心（1000转/分钟，30分钟），取棕色底部结晶和用5%硫酸铵溶液洗两次，除去无定形沉淀，得粗制铁蛋白晶体。

提纯方法　每kg马脾制得粗晶铁蛋白，用150 mL 2%硫酸铵溶解，离心（3000转/分钟，30分钟），除去不溶物，每100mL上清液加而体硫酸铵5g，边加边搅拌，4℃放置2天，即有大量结晶析出，如此重复3～5次，即可得到很纯的铁蛋白。但在结晶的铁蛋白中约含有6～7%的镉离子，为了除去铁蛋白中的镉离子，将结晶的铁蛋白以2%硫酸铵溶解，每100mL溶液加固体硫酸铵33g，使铁蛋白沉淀。如此重复5次。最后沉淀物以每mL50mg保存于半饱和硫酸铵溶液中。

产率0.7g/kg新鲜马脾。每kg不新鲜马脾只得0.3g铁蛋白。如果马脾有些腐败了，就根本没有结晶。

质量测定

1．铁蛋白结晶　用上述方法制得的结晶，经光学显微镜观察为菱形，六角形结晶。

2．铁蛋白电子显微镜观察　铁蛋白结晶用蒸馏水透析，直接涂在不喷碳的铜网上作观察，铁蛋白内核直径为6.8nm。然后再用pH6.7的2%磷钨酸复染，观察到大小均匀的铁蛋白颗粒。

3．铁含量　在20～30%左右。

用途　此制剂用于电子显微镜。

贮存　冷藏（0～5℃），但不得结冻！

参 考 文 献

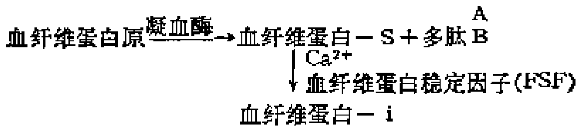
〔1〕郭晓慧，刘云英：生化药物杂志，第三期（总29期），9～10(1984年)。

血纤维蛋白　Ⅱ-3(1)-0015

Fibrin

理化性质　血纤维蛋白是指聚合了的血纤维蛋白单体。末端凝血分四步进行①　血纤维蛋白质在凝血酶的影响下水解成血纤维蛋白及其多肽碎片；②　血纤维蛋白形成软的凝块，它容易被分散；③　凝血酶激活血纤维蛋白稳定因子（FSF），存在于血浆中的酶前体；④　在网中的血纤维蛋白在激活的FSF影响下，交联起来形成最后的硬块。

血纤维蛋白以两种主要的形式存在：i“不溶”和s“溶解”血纤维蛋白，它们的尿素溶解度以及其他特性都有差别。



多肽A分子量1900，多肽B分子量2400。

理化参数　PI5.6。

制备方法[1]　血纤维蛋白单体从血纤维蛋白原和凝血酶凝成块制备，然后把凝块溶于0.3mol/L氯化钾、3mol/L尿素或3mol/L盐酸胍（都在pH5.3）中。另一种方法是把血纤维蛋白原溶于上述溶剂中，然后加入凝血酶。血纤维蛋白的溶解速率在所有酸度和碱度的研究情况下都比血纤维蛋白原慢。

贮存　室温。

参考文献

〔1〕 Seegers H. W.："Prothrombin", Harvard University Press, Cambride, Massachusetts, 444～455, 1962.

血纤维蛋白原　Ⅱ-3(1)-0016

Fibrinogen

别名　Factor Ⅰ

分子量　约400000(二聚体)

理化性质　一种血浆蛋白质，结构上属于角蛋白-肌球蛋白组。在人血浆中含量为0.3～0.4g/100mL。对血凝是必需的。血纤维蛋白原分子由α(A)，β(B)，和γ(C)，通过几个二硫键交联起来的三条肽键所组成。凝血时，凝血酶从血纤维蛋白原的α和β链的N-末端释放出血纤维蛋白多肽A和B，形成血纤维蛋白。因为血纤维蛋白较其他血浆蛋白溶解得更少，可以容易地用氯化钠（或硫酸铵）沉淀以分离出来。

理化参数　PI5.5。

制备方法[1]　20 L血和1 L特殊的抗凝剂（1.85%草酸钾和0.5%草酸）混和。离心并结冻。在美国这样的血浆结冻在木桶里有售。每一桶含约25 L血浆。在实验室它们保存在－10～－30℃。

在制备血纤维蛋白原的前一天，所有用具要准备好，使工作能在6小时内完成。首先，准备4个不锈钢盘（53×38×12.7cm深）并排在地上。然后，从深度结冻库中取出结冻血

浆的木桶。设法拆出结冻的木桶，用锤子和鑿子快速把血浆切成块，约7.62cm见方。把结冻血浆块放入盘内，用电风扇在上面吹空气流。血浆要周围移动。随着解冻进行，大块进一步碎开直至最后只剩小量的冰。后者对保存整批冷却是有用的。冷冻离心收集血纤维蛋白原。

血浆直接放入石腊衬杯内（10cm直径×12.5cm深）。离心（2000转/分钟，数分钟），血纤维蛋白原很易沉下来。用4只杯子从25L血浆制得的血纤维蛋白原很快收集。用2倍压紧的血纤维蛋白原体积的生理盐水盖过它以洗涤之，至少洗5次。同时要把杯子放入冰浴中保持冷冻。用玻璃棒一端装上7号橡皮塞搅拌使充分混和。混合物同前离心，反复用盐水洗涤。血纤维蛋白原置不锈钢烧杯内，在室温用溶剂（900mL生理盐水+50mL咪唑缓冲液）混和。再次用玻璃棒和橡皮塞搅拌。不锈钢烧杯放入50℃水浴中，混合物保持在经常的搅动中使温度达37℃。不久，搅拌出现闪光现象说明大部分的血纤维蛋白原已被溶解。存在的变性蛋白在室温离心（2500转/分钟）除去。溶液直接放入石腊衬的杯子内，离心30分钟或更短时间，得一清血纤维蛋白原溶液。血纤维蛋白原置玻璃容器内，在干冰与乙醇冷凝混合液中旋转使冻结。血纤维蛋白原的浓度通常大于3%。蛋白质与凝血酶的可凝血程度通常是100%，但有时仅95%。它可能含少量的血纤维蛋白溶酶和血纤维稳定因子（FSF，凝血因子XⅢ）。FSF将血纤维蛋白原在37℃加热3小时或在40℃加热1小时都能被破坏。

最后产物用硫酸铵在冷处分级分离。第一次沉淀除去，然后，血纤维蛋白原沉淀。沉淀对用咪唑缓冲的生理盐水透析（室温）以除去硫酸铵。

提纯方法 2g商品血纤维蛋白原溶于100mL 0.1mol/L磷酸缓冲液（pH6.4）中。溶液用100mL水稀释，置冰箱过夜。过滤除去沉淀。在室温下加入$\frac{1}{3}$体积的饱和硫酸铵。絮凝的沉淀离心收集，溶于60mL0.3mol/L氯化钾（室温）。氯化钾的pH用氨调节至7.4。溶液在冰箱中，对1L0.3molL氯化钾透析3天。至少要换3次外透液。

血纤维蛋白原可以通过乙醇分级来浓缩。20.5L牛血和1L抗凝剂（1.85%草酸钾和0.5%草酸）。离心得血浆。次日8L血浆用等体积生理盐水稀释并冷至0℃。在0℃以细喷沫加入21%乙醇溶液直至乙醇浓度达7%。沉淀在0℃离心收集，并用1.5L冷7%乙醇在生理盐水洗涤3次。沉淀溶于1.5L生理盐水并保存于－40℃。可凝血蛋白的含量因不同制备每批而异，在70～98%之间。

贮存 －40℃。

参考文献

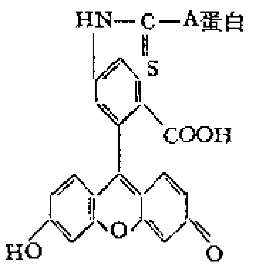
〔1〕 Seegers W. H.,:"Prothrombin", Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, 320～337, 1962.

异硫氰酸荧光素标记A蛋白 Ⅲ-3(1)-0017

Fluorescein isothiocyanate labeled protein A

别名 Protein A-FITC

结构式



理化性质 结合能力为7～9mg人IgG/mg固体，最少含20μgFITC/mg蛋白。

制备方法[1]

1．硝基荧光素二乙酸盐（Ⅰ） 按Coons法〔*J. Exper. Med.*, 91,1(1950)〕制得硝基荧光素和它的两种二乙酸盐异构物。只用异构物（Ⅰ）进行下面制备。

2．氨基荧光素二乙酸盐（Ⅰ） 5.0g(0.011mol) 研细的硝基荧光素二乙酸盐（Ⅰ）和1g蓝尼镍催化剂在200mL无水乙醇中，在2.2×10^{6}Pa压力下催化氢化直至氢气停止被吸收为止。利用加热灯以加热反应容器可以加速反应。溶液逐渐在氢化过程中呈现一鲜艳蓝色荧光。反应混合物过滤以除去催化剂，溶液蒸发至约30mL，残留物倒入1L冰水中。浅黄褐色固体过滤收集，用水洗涤，干燥。重4.3g（产率88%），熔程145～160℃。

	C	H	N	H_2O
$C_{24}H_{17}NO_7\cdot H_2O$计算含量	64.14	4.26	3.12	4.01
实测	64.02	4.46	3.01	3.84

荧光素异硫氰酸盐（Ⅰ） 5g氨基荧光素二乙酸盐（Ⅰ）溶于20mL丙酮中，滴加到一搅拌着的4mL硫羰化二氯，在20mL40℃丙酮的溶液中。溶液加热回流4小时。溶剂和过量的硫羰化二氯减压除去，残留物溶于20mL丙酮，溶液滴加至1200mL快速搅拌的Skellysolv B(沸点为60～70℃，主要为正己烷，但亦含有正戊烷和正庚烷)中。沉淀橙色过滤收集，用Skellysolv B洗涤，干燥。得重4.3g。产物加热则分解；产品不熔。

异硫氰酸荧光素-A蛋白[2] 荧光标记最易以异硫氰酸荧光素在硅藻土上进行。样品(即A蛋白）在盐酸胍中经还原和羧甲基化后，加入足够量的碳酸氢钠使其浓度达约1%。标记反应以加入10mg10%的异硫氰酸荧光素在硅藻土上/mL开始，溶液室温保温1小时，加甘氨酸（10mg/mL）以破坏过量的试剂，用1mol/L盐酸调节pH至6.0。真空除去溶液中的气体，加入蓝色葡聚糖。不必加2,4-二硝基苯基丙氨酸，因为荧光素标记甘氨酸是适当的标记。样品离心使硅藻土沉淀，上清液取出作为样品。为了测定荧光素，加6倍体积的2%碳酸氢钠到柱流出液部分。激发波长为493.5nm，而荧光素测定在530nm。

贮存 0～+5℃。

参 考 文 献

〔1〕 Riggs J. L., Seiwald R. J., Burckhalter J. H., Downs C. M. and Metcalf T. G.: *Amer. J. Pathol.*, 34, 1081(1958).

〔2〕 Hirs C. H. W. and Timasheff, "Methods in Enzymol", Vol. XXⅦ, Academic Press, New York and London, 38, 1972.

白 明 胶 Ⅱ-3(1)-0018

Gelatin

理化性质 一种不均一的具有高平均分子量的水溶性蛋白质混合物。明胶在天然中并未发现，但胶原经水解作用能得到。从营养上看，明胶是一不完全蛋白质，缺乏色氨酸并包含

少量其他的必需氨基酸。

无色或微黄、透明、脆薄、无臭、无味的片或粗粉。能膨胀并吸收5～10倍其重量的水，在35～40℃以下形成胶。溶于热水，甘油，乙酸；不溶于有机溶剂。两性物质。

制备方法[1]

一、酸前体法　浸泡相当于50g干的腱于含5mL浓盐酸的1L水中。浸过夜后，酸化的腱在80℃加热1小时使转变成明胶。明胶溶液用稀氢氧化钠中和，过滤，凝胶化和干燥。干的明胶片粉碎，用冷水洗涤以除去盐。湿的、去盐粉末最后加湿以形成浓溶液。此溶液凝成胶并干燥。所得明胶灰分为0.32%，近似等电点为pH7.2。氮含量为18.52%。

二、碱前体体　浸泡干燥腱于氢氧化钙悬浮液中12星期。每周换用新鲜氢氧化钙溶液。浸泡期结束时，膨胀的腱用水洗涤，并用稀盐酸中和至接近其等电点。用乙酸使中和完成以帮助除去纤维中痕量的钙。从松弛的等电点纤维挤出剩余的水分，再在室温下用10%氢氧化钠浸泡3天。高度膨胀的胶状物用稀盐酸中和至等电点。榨出剩余的水，潮的腱加热至40℃。腱容易地溶解形成明胶。溶液过滤，凝胶化和干燥。干燥片状物粉碎，用冷水洗至不含盐，并重新干燥。用此方法制得明胶其等离子pH为4.9，灰分0.13%，氢含量18.08%。原来的干腱氮含量为18.49%，灰分为0.22%。

贮存　室温。

参 考 文 献

〔1〕 Veis A.:"The Macromolecular Chemistry of Gelatin', Academic Press, New York and London, 100,1964.

生长激素释放因子　　Ⅱ-3(1)-0019

Growth hormone releasing factor

别名　GHRF；GRF；Growth hormone-releasing hormone(GH-RH)

结构式　酪·丙·天冬·丙·异白·苯丙·苏·天胺·丝·酪(10)·精·赖·缬·白·甘·谷胺·白·丝·丙·精(20)·赖·白·白·谷胺·天冬·异白·甲硫·丝·精·谷胺(30)·谷胺·甘·谷·丝·天胺·谷胺·谷·精·甘·丙(40)·精·丙·精·白·酰胺

分子量　5040.4

理化性质　神经递质，刺激垂体生长激素的分泌。

猪GH-RH被胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、胃蛋白酶所破坏。在pH8.5、37℃保湿4小时并不破坏其生物活力；同样保温在pH2则破坏其活力。

制备方法[1]　制自肿瘤。肿瘤组织在手术时或在验尸时取得，并保存结冻2年再抽提。

1．抽提　肿瘤组织用2mol/L乙酸在Polyfron匀浆器中抽提，置沸水浴中10分钟，然后在4℃离心（12000×g，20分钟）。上清液冷冻干燥并在－70℃保存。同时把冻干物重新悬浮于0.05mol/L磷酸缓冲液（pH7.5）或水中（浓度为相当于25～50mg组织/mL）并离心（12000×g，10分钟）使清。

2．纯化　通过Sephadex G-75凝胶过滤，在中性pH和低离子强度吸附上DEAE-纤维素，再用增加离子强度把它洗脱下来。进一步用高压液相色谱纯化，柱用氰丙基载体并采用

乙腈梯度展层，得制剂其活力在40ng蛋白/mL。此部分纯化的GHRF(大部分的生物活性的生长激素，抑制素已经除去）增加垂体单层培养生长激素释放到基础线的5倍。

酶水解研究揭示了GHRF不被羧肽酶、白氨酸氨肽酶、和焦谷氨酸氨肽酶所作用，但被胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶所破坏，表明本身的赖氨酸和/或精氨酸和芳香氨基酸残基对生物活性是必需的。

生长激素释放因子，可以从猪脑下垂体抽提液中分离而得，也可用化学合成法制得[2]。

贮存 干燥，－20℃。

参 考 文 献

〔1〕 Frohman L. A. et al. ;*J. Clinical Investigation.*, 65,43(1980).

〔2〕 Guillemin R. et al. ;*Science.*, 218,585(1982).

生长激素释放抑制因子 Ⅱ-3(1)-0020

Growth hormone releasa inhibitory factor

别名 GRIF；生长激素释放的抑制激素Growth hormone release inhibifory hormone；GRIH；生长激素抑制素Somafosfafin；SRIF

结构式 丙-甘·半胱·赖·门胺·苯丙·苯丙·色·赖·苏·苯丙·苏·丝·半胱

分子量 1638

理化性质 十四肽的冻干粉。1×10^{-9}mol/L对生长激素的分泌有显著的抑制作用。有茚三酮反应，对Ehrlich试剂也能反应，但对Pauly试剂无反应。如在6mol/L盐酸水解或以胰凝乳蛋白酶消化即全部破坏其生物活性。

对于生长激素抑制素，广谱性的生物学作用，可分列如下[1]：① 抑制生长激素的释放；② 抑制在病理条件下催乳激素和促肾上腺皮质激素的释放；③ 抑制从下丘脑释放促甲状腺素释放激素；④ 抑制胰岛素、胰高血糖素和胰多肽的释放；⑤ 抑制所有胃肠道激素的分泌；⑥ 抑制降钙素的分泌；⑦ 抑制血管紧张肽酶原的释放；⑧ 抑制促甲状腺素的分泌；⑨ 抑制胃酸，胃蛋白酶，胰碳酸氢盐，胰酶和唾液淀粉酶的分泌；⑩ 抑制胃液和胆汁的输送，抑制由于电刺激而引起的肠肌肉层神经丛中分泌乙酰胆碱，抑制腹部的血流量；⑪ 改变大白鼠的行为效应；⑫ 影响对葡萄糖、木糖，氨基酸，甘油三酯和钙离子的吸收；⑫ 刺激对氯化钠的吸收；⑭ 破坏血小板的排列。

制备方法[2] 有提取法，原料为羊下丘脑。固相合成法。

一、提取法

取约50万只羊下丘脑的三氯甲烷-甲醇-冰乙酸抽提液（2kg)，分配于两个系统；LRF浓缩物通过羧甲基纤维素离子交换层析。在这一步，可以观察到从LRF区域中分离出一带有生长激素抑制因子活力的部分。它可进一步用Sephadex G-25凝胶过流和液体分配层析（正丁醇-乙酸-水＝4:1:5，v/v）纯化。最终产物经薄层层析和电泳检测只有痕量多肽杂质。产量8.5mg，含75％氨基酸，产率2％。

二、合成法

采用固相方法纯化是在2-巯基乙醇存在下，进行凝胶过滤。纯化后的合成多肽具有天然生长激素抑制因子同样的生物活力。在浓度≥1nmol/L时，天然的或合成的生长激素抑制因

子抑制大白鼠垂体前叶分散细胞的单层培养中的生长激素分泌。

贮存　－20℃干燥保存。

参 考 文 献

〔1〕 王新昌：生化药物杂志，总29期，74(1984)。

〔2〕 Brazeau P., Vale, W., Burgus, R., Ling, N., Butcher, M., Rivier, J. and Guillemin, R.: *Science.*, 179,77(1973).

胰 高 血 糖 素　　Ⅱ-3(1)-0021

Glucagon

别名　Glukagon；Hyperglycemic-glycogenolytic factor；HGF；HG因子 HG-factor

10

结构式　组·丝·谷胺·甘·苏·苯丙·苏·丝·天冬·酪·丝·赖·酪·白·天冬·丝·精·精·丙·

20

谷胺·天冬·苯丙·缬·谷胺·酪·白·甲硫·天胺·苏

分子量　约3550

理化性质　29肽。在胰脏Langerhans胰岛α-细胞中产生的多肽激素。这高血糖胰因素的存在原先假设作为胰岛素投药后，起始高血糖的解释。

菱形十二面体。稳定。不溶于水；溶于酸碱介质，即pH低于3和高于9.5。

治疗范畴为抗糖尿病。

制备方法[1,2]

一、45.4kg绞碎的牛胰用65％酸化含水乙醇在pH3.2(0.02mol/L磷酸)提取2小时，过滤分离固体物，用氨水调提取液pH至8.2，过滤，将沉淀的磷酸铵盐除去，用稀硫酸调滤液的pH至3.6，真空浓缩，在乙醇蒸发过程从溶液中析出的油脂，用倾泌法将其分离，所得浓缩液体积约有41L，用5mol/L氢氧化钾液调浓缩液pH至7.5，随即在5℃以下通过两根装有4LAmberlite-200K$^+$型柱（树脂柱事先经0.005mol/L磷酸钾pH7.5缓冲液平衡），流速200mL/min，接着用16L0.005mol/L磷酸盐缓冲液于pH7.5洗涤柱，(洗出液保留用于胰岛素精制工序)。

为把已吸附的胰高血糖素从树脂上洗脱下来，将8L0.1mol/L氨水通过树脂床使其与树脂平衡2小时，最后用16L0.1mol/L氨水通过树脂床完成洗脱。将洗脱下来的溶液用强酸调至pH2.5，加固体氯化钠使成15％氯化钠以沉淀胰高血糖素。存在于粗浓缩液中的胰高血糖素在0.1mol/L氨水洗脱液中回收率达97％。

二、分离胰高血糖素并能同时回收胰岛素的方法。

1. 胰高血糖素和胰岛素的分离　起始物的处理。按酸醇抽提法制备胰岛素盐析物，将每kg猪胰所得到的盐析物溶于900mL蒸馏水中，以5mol/L氢氧化钾调pH至7.5～7.6备用。

D72离子交换树脂分离

D72大孔强酸苯乙烯阳离子交换树脂（南开大学化工厂）40～60目，K$^+$型，交换当量>4.2 mol/g，柱径长比2.2×43cm。使用前将树脂柱以pH7.5磷酸钾缓冲液平衡，然后将上述盐析物溶液引入柱，流速5mL/min，全部收集流出液供进一步分离纯化胰岛素。

待全部盐析物溶液过柱后，以pH7.5磷酸钾缓冲液洗柱，洗至无Folin反应为止。再以0.1mol/L氢氧化铵洗脱，流速仍为5mL/min。收集有Folin反应的部分，供进一步分离纯化胰高血糖素。

2. 胰高血糖素的分离纯化 D72树脂洗脱液的脱盐浓缩。3520吸附树脂（南开大学化工厂）柱径长比为1.2×10cm。

D72树脂洗脱液以盐酸调pH至7.0～7.5，然后引入3520吸附树脂柱，流速1mL/min，待全部洗脱液过柱后，用蒸馏水充分洗柱，最后以68%乙醇洗脱，洗至无Folin反应，收集全部洗脱液在35～40℃下减压浓缩至每公斤猪胰1～2mL。

葡聚糖凝胶G-50过滤。葡聚糖凝胶G-50柱径长比为2.5×90cm。使用前凝胶柱以1mol/L乙酸平衡，分部接收每管5mL，以紫外分光光度计测定各管的A_{280nm}值，并绘出吸收曲线。经电泳及活性测定，胰高血糖素主要在峰Ⅱ。合并峰Ⅱ各管，以3520吸附树脂脱去乙酸并同前浓缩即得峰Ⅱ的浓缩样品待进一步纯化。

DEAE纤维素层析分离。DEAE纤维素DE-11柱（1.1×90cm），柱用pH8.5、0.01mol/LTris-HCl缓冲液（含7mol/L尿素，0.001mol/LEDTA-Na_2）平衡。然后取上述峰Ⅱ浓缩液上柱，以400mL0～0.2mol/L氯化钠缓冲液进行梯度洗脱，流速0.5mL/min，按每管3mL分部接收，测定各管的A_{280nm}值并绘出吸收曲线。经电泳、活性测定胰高血糖素集中于峰Ⅱ。合并峰Ⅱ各管以3520吸附树脂脱盐并同前浓缩。峰Ⅱ所得为电泳纯，具活性的胰高血糖素，冷冻干燥备用。

将上述峰Ⅱ冻干品溶于少量蒸馏水中，然后先以0.1mol/L氢氧化钠调至pH10.5，再以0.1ml/L盐酸回调至pH8.5，使最终浓度为5mg/mL左右，置4℃冰箱7天，即出现大量菱形十二面体结晶，收集结晶即为胰高血糖素成品。收率为每公斤猪胰1mg。

贮存 0～+5℃

参 考 文 献

〔1〕 颜凯：（译自GB Patent：1356427，1974），生化药物杂志，31，18(1985)。
〔2〕 南开大学生物系生化教研室，天津市第二生化制药厂：生化药物杂志，31，1(1985)。

血 蓝 蛋 白 Ⅱ-3(1)-0022

Hemocyanin

分子量 4.5×10^5～1.3×10^7

75000（节肢动物；300000（软体动物）

理化性质 血蓝蛋白是在节肢动物和软体动物血淋巴中发现的含铜的蓝绿色的高分子量蛋白质。它们的作用是氧的传递体并且是已知的能与氧气可逆结合的唯一铜蛋白。

分子中并无血红素或卟啉存在，其结构为简单地巨大多肽链（1～9百万道尔顿），其铜原子与1个或几个氨基酸侧链结合。分离出的蛋白质的聚集状况是不一定的，它与特定的条件，特别是离子强度和pH有关。

节肢动物的血蓝蛋白一条链与1分子氧结合，而软体动物的则与6分子氧结合。含铜量前者为0.17%而后者为0.025%。在血蓝蛋白中铜原子是直接与蛋白质结合，是以Cu^{+}状态结合。血蓝蛋白具有多种催化性质，特别是当它变性后。包括多酚氧化酶，过氧化氢酶和脂氧合酶。

理化参数 Limulus血蓝蛋白属于节肢动物型。铜/蛋白0.17%；紫外$\lambda_{最大}$341nm；$\varepsilon_{278}^{mg/Lm}$ 1.19(pH10.0)； 1.39(pH7.0)，$\frac{A_{340}}{A_{278}}=0.27$；氮15.5%。

制备方法[1,2] (1) 腹足纲动物的血淋巴通过心脏穿刺制取，保存于+4℃甲苯下。(2) 甲壳纲动物的血淋巴制自活体动物，振播产生一类"纤维"组成，离心(10000×g，10分钟)弃去。(3) 蜗牛血蓝蛋白从蜗牛（罗马蜗牛）的血通过心脏穿刺，收集并保存在+4℃甲苯下。分析结果说明血液中含下列无机组成：Na^+70～140mmol/L；K^+3.0～7.6mmol/L；Ca^{++}3.9～12mmol/L；Mg^{++}5.9～17mmol/L；Cl^-81mmol/L。

由于血液中除血蓝蛋白外不含其他蛋白，它大多数不纯化即可使用。

贮存 0～+5℃。

参 考 文 献

〔1〕 Van Bruggen, E. F. J., Schuiten, V., Wiebenga, E. H. and Gluber, M.: *J. Mol. Biol.*, 1,249 (1963).

〔2〕 Van Bruggen, E. F. J., Wiebenga, E. H. and Gruber, M.: *J. Mol. Biol.*, 4,1(1962).

血 红 蛋 白 Ⅱ-3(1)-0023

Hemoglobin

别名 Hb；Ferrohemoglobin

分子式 $(C_{738}H_{1166}N_{203}O_{208}S_2Fe)_n$

分子量 15500（亚基），64500

理化性质 血红蛋白是红血球的主要成分，平均占32%。它把氧从肺运输到身体组织中，并促成二氧化碳的输回。它由4条肽链（称珠蛋白）所组成，每一条链与一个血红素结合。它与氧结合称氧合血红蛋白（HbO_2），当氧被CO所取代称碳氧血红蛋白（HbCO）。它与氧气可逆性结合，而血红素的铁仍为亚铁状。如Hb中的铁从亚铁氧化成高铁时，称为高铁血红蛋白，随之其氧结合能力也损失。

血红蛋白是第一个得到结晶的蛋白质。结晶形状、溶解度、与氧的亲和力、吸收光谱在不同种属血红蛋白中，有量的差异，由于蛋白质部分的氨基酸顺序的不同。在所有脊椎动物和许多无脊椎动物血红蛋白中，有相同的血红素组分。人HbO_2为四面体结晶；马HbO_2为斜方晶（从柠檬酸血）和单斜晶（草酸血）。棕红色粉末或片状。溶于7倍水中，缓慢地溶于甘油。

制备方法[1] 血液离心后，红血球从较轻的血浆分离开来，虹吸除去血浆，红血球可用等渗生理盐水洗涤。加入乙醚到红血球中细胞破裂（溶血作用），再一次离心，得一清液为红色溶液的血红蛋白。加入酒精并冷至-20℃，用二氧化碳和氧处理或电透析可使蛋白质以氧化型结晶。

用途 可作蛋白水解酶的底物。

贮存 0～+5℃。

参 考 文 献

[1]Fieser L. and Fieser M.: *Organic Chemistry, 3rd ed.*, 455, 1956.

组蛋白(小牛胸腺)　　Ⅱ-3(1)-0024

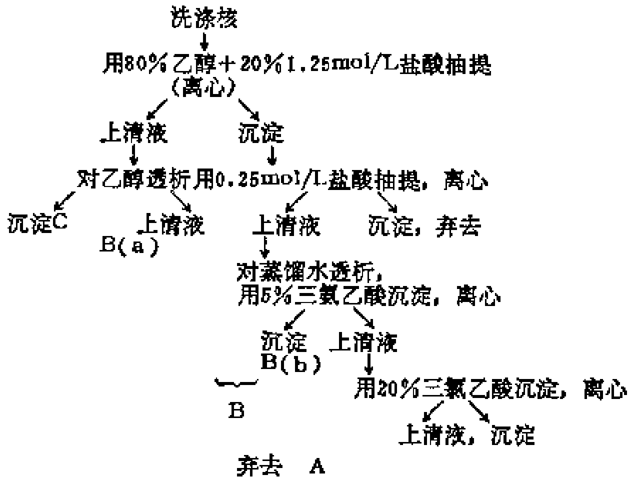
Histone

分子量　12000～20000

	Brabury命名	Johns命名	分子量
赖氨酸富含	H1	*f*1	约21500
赖氨酸稍富含	H2a	*f*2a2	14004
赖氨酸稍富含	H2b	*f*2b	13774
精氨酸富含，含CysH	H3	*f*3	15324
精氨酸富含，含Gly	H4	*f*2a1	11282

理化性质　具有一个没有折叠的结构，通过离子连结附到细胞核的脱氧核糖核酸上。组蛋白易受酶的破坏；溶于硫酸汞-硫酸介质。

制备方法[1]　用下列工艺流程可以制备三种组蛋白。此方法可应用于小牛的胸腺、脾、肝，和大白鼠的肝和脾。



1. 核的分离　组织可采用新鲜的或保藏于干冰的。切片后和5倍体积的0.25mol/L含5mmol/L氯化钙的蔗糖混合，用匀浆器短时间成匀浆。过滤（一层纱布）后，滤液再悬浮于匀浆器内搅匀。最后匀浆以等体积的0.34mol/L蔗糖内含0.2mmol/L氯化钙垫起，在1700×g离心，10分钟。然后按Schneider(*J. Biol. Chem.*, 233 154, 1958）方法分离。经过4次洗涤后，最后沉淀在20倍体积2.2mol/L蔗糖中再搅成匀浆，在40000×g离心1小时，最后沉淀含核。

2. 组蛋白的分离　上述核在约30倍0.14mol/L氯化钠内含0.01mol/L柠檬酸三钠中搅匀。匀浆在20000g离心，10分钟；上清液弃去。沉淀再同上洗3遍。沉淀重复2次在70%乙醇搅成匀浆以洗涤之并离心。最后离心得白色沉淀（粗制脱氧核糖核蛋白）。用0.25mol/L盐酸在80%(v/v)乙醇液抽提。

对乙醇透析，得富含精氨酸的组蛋白。重溶于80%含0.25mol/L盐酸的乙醇，再对乙醇透析。白色沉淀用丙酮和乙醚洗涤，真空干燥，得粗制富含精氨酸的组蛋白C。

透析时沉淀C以后的上清液合并，冷室中透析袋内蒸发以减少体积至$\frac{1}{10}$。再对蒸馏水（用盐酸使稍酸）透析。加入三氯乙酸（1g/mL）使达5%。放置过夜得沉淀，离心收集，用丙酮（内含1%盐酸）洗涤，再单独用丙酮洗，最后用乙醚洗，在真空中干燥B(a)。

80%乙醇-盐酸抽提核的残留物用0.25mol/L盐酸抽提3次；合并抽提液对蒸馏水透析直至透析残留物约pH3.0(12小时)。蛋白用三氯乙酸（最终浓度5%）沉淀。放置过夜，收集沉淀，用B(a)方式处理，得B(a)。上清液含几乎全部的很富含赖氨酸部分，它溶于5%三氯乙酸。此部分在三氯乙酸浓度增加至20%时沉淀。放置过夜，沉淀变厚（与C，B(a)和B(b)相比）。收集，重溶于少量5%三氯乙酸中，离心使清。反复用三氯乙酸沉淀，直至沉淀溶于5%三氯乙酸中得一清液为止。最后沉淀同上洗涤与干燥。很富含赖氨酸部分（A）是纯的（淀粉电泳测定），不再需要纯化。

3. B和C的纯化　富含精氨酸的组蛋白（C）溶于蒸馏水中，离心，上羧甲基纤维素柱。稍富含赖氨酸的组蛋白B(a)和B(b)混合，溶于蒸馏水，离心，用三氯乙酸重沉淀（最后浓度5%）以除去痕量的很富含赖氨酸的组分A。三氯乙酸沉淀B，离心收集，同前洗涤与干燥，并溶于蒸馏水中上羧甲基纤维素柱。

4. 层析　羧甲基纤维素按Peterson(*J. Am. Chem. Soc.*, 78,751,1956）制备，并按Phillips（*Biochem. J.*, 72,538，1959）方法使用。稍富含赖氨酸部分B用0.01mol/L盐酸洗脱，富含精氨酸的组蛋白C用0.02mol/L盐酸洗脱。

从B层析中富含精氨酸部分与C混合，小心中和后，再重层析（分步用0.01mol/L，0.012mol/L和0.02mol/L盐酸），对蒸馏水透析6小时，冷冻干燥。

贮存　0～5+℃。

参 考 文 献

〔1〕 Hnilica, L., Johns, E. W. and Butler, J. A. V.: *Biochem. J.*, 82,123(1962).

免 疫 球 蛋 白　　Ⅱ-3(1)-0025

Immunoglobulin

别名　丙种球蛋白；Gamma globulin；γ-globulin；Ig

分子量　（详见理化性质）

理化性质　从人和动物血清中分离出具有抗体活力的不均一组的蛋白。免疫球蛋白从结构和生物性质的不同分成不同等级；主要的如IgG，IgM，IgA，IgD，IgE。IgG，IgM和IgA分别占总γ-球蛋白的约80%，10%和<10%。IgD和IgE是很少的。

免疫球蛋白通常由两种肽链：重链（H链）和轻链（L链）所组成。重链的分子量约55 000，分成γ-，α-或μ型；轻链的分子量约20000，分K(κ)或L(λ)型。在聚合的Ig中(如聚合的IgA和IgM)，还有第三种肽链，与聚合有关，故称J链，分子量约15000，轴比17.9，富含半胱氨酸，它连接在α或μ链倒数第二个半胱氨酸残基上。

任一单体Ig分子都由二条相同的H链和二条相同的L链组成，"四链结构"由此得名。两条H链通过二对二硫键共价维系，两条L链分别与H链配对，由一对二硫键在L链C端处与H链共价相连，形成左右对称的分子结构。

制备方法[1]

抗血清免疫球蛋白组分的分离

这一步骤可用硫酸铵或硫酸钠沉淀法，或用冷乙醇技术来进行。

一、硫酸铵法

1. 以等量等渗盐水稀释抗血清，并冷却至0～4℃。

2. 缓缓加入等体积的饱和硫酸铵，持续搅拌，缓冲到pH7.0，继续搅拌30分钟。

3. 在4℃，以2500转/分钟离心30分钟。

4. 把沉淀重新悬浮于冷的半饱和的硫酸铵中，并在此介质中洗2次。

5. 把沉淀溶于极少量的冷盐水中。

6. 在冷处，对缓冲盐水作透析，直至透析液不含硫酸盐为止。

7. 对未缓冲的盐水作透析10～24小时。

8. 加入硫柳汞（merthiolate）至浓度为1∶10000，并贮于4℃。

饱和硫酸铵的制备：将试剂级结晶硫酸铵加于约500mL蒸馏水中，同时于灯上加热，需要相当的量，但不必在沸点时获得饱和液。以小量冷却溶液作试验，当冷至0～4℃后，加入稀氢氧化钠使pH为7.0。

二、冷乙醇方法

1. 使1份血清用蒸馏水稀释至4份，必要时以0.05mol/L磷酸氢钠或0.05mol/L乙酸调pH至7.7（在25℃）。

2. 冷却稀释的血清直至有小量冰形成。

3. 慢慢将50%乙醇（预冷至-10～-20℃）加至搅拌中的血清中，最终浓度为20%（2.67容积）。

4. 当进行前一步时，把盛有血清和乙醇混合液的容器放入冰盐混合物内或放入含有少量固体（CO_2）二氧化碳的冷乙醇中。

5. 于5～7℃离心，分离沉淀。

6. 溶粗制球蛋白组分于水中，并对PBS透析以除去乙醇。

提纯方法

1. 蛋白A-琼脂糖化凝胶粒的制备　葡萄球菌蛋白质A的湿凝胶（5mL）以共价键结合于琼脂糖化凝胶4B中，装入一个由10mL塑料注射器组成的柱内，后者用尼龙网支持，网固定于一个○形橡胶环。蛋白质A含量应为2mg/mL湿凝胶，其IgG结合能力、每5mL湿凝胶约为80mg。当不用时，柱贮存于4℃，平衡以含0.005%硫柳汞的PBS。

2. 提纯步骤

（1）以20mL的PBS洗柱，使缓冲液到达凝胶表面。

（2）使10mL全抗血清流入柱，速度为50mL/h。

（3）当最后血清到达凝胶顶时，以5mL PBS洗柱上方的注射器的侧壁，并让其下行，直至缓冲液表面达到凝胶顶。

（4）以PBS洗柱，直至洗脱物的光密度达到零（约40mL后），使缓冲液到达凝胶顶。

（5）以0.58%（*v*/*v*）乙酸液（溶于0.15mol/L氯化钠中）洗脱IgG。

（6）对碳酸盐-重碳酸盐缓冲液（每升含碳酸氢钠17.3g和碳酸钠8.6g）在4℃，于pH 9.3，透析IgG洗脱液，过夜。

（7）以PBS 20mL洗柱（几乎可以无限期的使用，而其结合性能不变）。

贮存 免疫血清通常保存于0～4℃（液状）或-20℃（粉状），并加入保护剂以防止细菌生长。常使用低浓度（分别为1:10,000和0.05mol/L）硫柳汞和迭氮钠。

参考文献

〔1〕 Pearse A. G. E. 著，马仲魁译："组织化学，理论和实用，卷一：制备与光学技术。"第四版，人民卫生出版社，195页，1985。

免疫球蛋白G

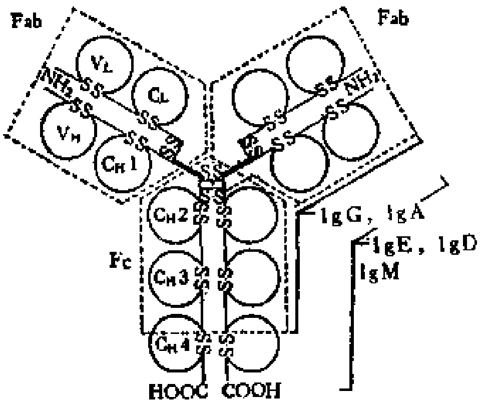
Ⅱ-3(1)-0026

Immunoglobulin G

别名 IgG

分子量 160000（人血清）

理化性质 下图为IgG分子"Y"形基本结构模型。连接C_{H1}和C_{H2}的肽段（图中粗线所示）就是



IgG分子的"绞链区"，约含25个氨基酸残基，其中以脯氨酸比例最高。绞链区有较大的柔性，C端部位易受蛋白水解酶作用、横切成二部分，如用木瓜蛋白酶降解得Fab和F_c碎片，胃蛋白酶降解得$F(ab)_2$碎片，再经化学还原得Fab′碎片。

理化参数 迁移率为γ-球蛋白；$s_{20,w}$ 6.8S；PI为5.8～7.3；$\varepsilon_{280nm}(1\%,1cm)$13.8；碳水化合物约3%。

制备方法[1] 分离IgG（猪血清）的方法

1. 使全血清对10倍体积的0.1mol/L咪唑-盐酸缓冲液（pH7.0）于室温透析12小时。

2. 以LKB公司Multiperspex蠕动泵或相当仪器将第1步取得的血清10mL加到QAE Sephadex A_{50}的20mL柱的顶部。

3. 用0.1mol/L咪唑-盐酸缓冲液（pH7.0）洗脱，第一个峰是高纯度的IgG。

贮存 贮存免疫血清通常是在0～4℃或-20℃，并加入保护剂以防止细菌生长。常使用低浓度（分别为1:10000和0.05mol/L）硫柳汞和迭氮钠。

使用前，血清的冷冻与融化越快越好。分成适当的试样以避免因反复冻融而招致的结合力丢失，但用低压冻干和贮于封闭的安瓿则会带来很大的方便。

参考文献

〔1〕 Pearse A. G. E.："组织化学，理论和实用，卷一：制备与光学技术。"第四版。马仲魁译，人民卫生出版社，195页，1985。

干扰素　Ⅱ-3(1)-0027

Interferon

别名　IFN-

理化性质　感染后真核细胞所产生的一组抗病毒蛋白，它抑制许多动物病毒的增殖。它在1957年被发现。有许多物质刺激干扰素的形成，包括许多病毒（感染性的和失活的），内毒素，植物血球凝集素和某些合成的多聚羧化物，碳水化合物和抗生素等。分离的干扰素能抑制在组织培养、蛋、兔皮中病毒的增殖，对宿主细胞没有严重的毒性效应。抑制效应在产生干扰素的种属的细胞中最有效。

制备方法[1]　单一接种物紫外照射病毒三天之后，鸡羰毛膜尿囊膜产生大量的干扰素。

病毒（1000凝集剂量/膜）照射不同的时间，在其后的三天里释放的干扰素的量被测定。经过照射后，没有一种病毒能感染。

病毒照射的时间对干扰素产量的效果

病毒照射的时间	干扰素的产量					
	第一天		第二天		第三天	
	$-\log_2$①HA滴度	%控制组	$-\log_2$ HA滴度	%控制组	$-\log_2$ HA滴度	%控制组
30秒	<1	<0.9	<1	<0.9	2.2	4
1分钟	2.6	5.5	2.2	4	2.6	5.5
2分钟	4.0	14	2.4	5	3.3	9
缓冲液	6.8	100	—	—	—	—

① -log 2HA滴度代表一组6个羰毛膜尿囊膜月照射处理后，血细胞凝集作用滴度终点的平均log2值。

可以看到最短时间的照射导致最大量的干扰素产量。

贮存　0～+5℃。

参考文献

〔1〕 Burke D. C. and Isaacs A.: *Brit. J. Exp. pathol.*, 39, 452(1958).

α-乳白蛋白（牛奶）　Ⅱ-3-(1)-0028

α-Lactalbumin (bovine milk)

别名　乳清蛋白Lactalbumin

分子量　约16000

理化性质　α-乳白蛋白是在乳清中的众多蛋白中的一种。它虽然称为"白蛋白"，但它大部分不溶于水和pH4.0～4.6的稀盐溶液。它在pH6.0或更高时溶解度大，它通过在pH 6.6～6.7时，以硫酸铵盐析析出结晶。

纯α-乳白蛋白含可忽略灰分，氮15.86%，硫1.91%，碳53.32%，H7.01%和氧21.56%。其色氨酸含量为约7%，胱氨酸含量为6.4%和甲硫氨酸为0.95%。

理化参数　在电泳上α-乳白蛋白是均一的，其迁移率在pH8.5(1%蛋白质浓度，巴比妥缓冲液，$\mu=0.1$）时为$-4.2\times10^{-5}cm^2V^{-1}s^{-1}$。占乳清总蛋白的12%。

在超离心中α-乳白蛋白也是均一的，s为1.75×10^{-13}，D为10.6×10^{-7}。

制备方法[1] 原料为新鲜的生的撇牛奶，未经消毒的pH应为约6.5～6.7。

68 L奶浸在温水中使达25℃。牛奶移入91 L的陶器罐内。用木桨片温和地搅拌，以细水流状加入约3L 1mol/L盐酸使酪蛋白沉淀。酪蛋白凝集成大团有助于以后的除去。最后pH应为4.6(pH计)。混合物放置20～30分钟，然后再测pH，如果变化则重新调节。用棉布袋过滤以除去酪蛋白，收集滤液。乳清通常是浑浊的，容积在41～52 L，视乎袋子是否挤得彻底。

乳清转至91 L瓦器，pH用1mol/L氢氧化铵（约18mL/乳清）调至6.0。要记下碱的用量以便知道乳清总容积。继续加入固体硫酸铵至2.3mol/L(358 g/L乳清）以沉淀球蛋白部分。不宜用机械金属搅拌，因为会产生泡沫，宜用木浆片温和搅拌。当所有的盐已经溶解，混合液的pH通常会下降。加入少量（约3mL/L乳清）1mol/L氢氧化铵调pH至6.0。混合液放置至少20分钟，用折迭滤纸在8个大漏斗内放滤。收集滤液在有刻度的容器内。粗球蛋白沉淀弃去。

记下滤液的容积，合并放入瓦器内，同前加入硫酸铵至3.3mol/L以沉淀粗白蛋白部分。所需的盐量计算如下：从合并滤液的容积为A在2.3mol/L计算得所含硫酸铵的克数，此值×0.5(盐的比容)＝B；A－B＝水的容积；每1 L的水再加200 g硫酸铵使溶液从2.3mol/L调至3.3mol/L。作为有用的近似值，假设前几步的机械损失不多，所需加的盐量可以用原来乳清容积作基础，即200 g硫酸铵/L乳清液。

混合液放置至少20分钟，同前用折迭滤纸在8个漏斗内过滤过夜。滤液基本上不含蛋白质并弃之。沉淀粗白蛋白部分含β-乳球蛋白，α-乳白蛋白，和少量其他的蛋白。展开滤纸，用瓷勺刮下湿沉淀并移入4-L烧杯内。滤纸上附着的蛋白可用水抽提2次，每次500mL。抽提液通过玻璃毛过滤，用合并滤液以溶解主要的沉淀。另用500mL水以洗涤之，约得3L浑的绿黄色蛋白溶液。

以前几步可在室温进行。下一步对水透析要在4～7℃进行。甲苯作为防腐剂加到透析袋中。每袋装量不要多于$\frac{1}{3}$，（先对少量水透析，这样容积不会太大，β-乳球蛋白结晶有利），因为透析会增加容积。透析直至不含铵离子（Nessler氏试剂）。蛋白液＞9 L从透析袋中取出，过滤。清滤液pH约为6.3。在缓慢搅拌下滴加1mol/L盐酸调pH至5.20±0.05。约需45mL酸。加入β-乳球蛋白结晶，再装袋继续透析直至铵离子反应阴性，结晶完全（约需10～14天，如果β-乳球蛋白除去不尽会阻碍α-乳白蛋白以后的结晶)。离心除去球蛋白。

记下上清液容积。在缓慢机械搅拌下，滴加1mol/L盐酸调节pH4.0。约需35mL。溶液逐渐变浑，有些沉淀形成。沉淀含α-乳白蛋白，在此步不必离心。相当慢地加入固体硫酸铵至浓度为1.3mol/L(187g盐/L)。混合液的pH上升至约4.5。放置30分钟后，(如果放过夜，虹吸除去上清液)，沉淀离心，上清液弃去（上清液仍含α-乳白蛋白)。如要增加产量，硫酸铵加至50%饱和度（2mol/L，则又可得第二次大量沉淀。同前处理最终产率可增加20%。

沉淀移入烧杯内，以足够量（约500～600 mL）水使成稀悬浮液。藉助机械搅拌，滴加1mol/L氢氧化铵使达pH8.0。所有蛋白溶解，虽然溶液可能仍为不透明。溶液通过0.318 cm $\left(\frac{1}{8}\text{英寸}\right)$薄层硅藻土过滤。包括少量水洗涤得清金色滤液约1 L、α-乳白蛋白在有效的机械搅拌下，滴加mol/L硫酸调pH至4.0，在此pH缓慢搅拌15分钟。沉淀离心，弃去上清液。

重新沉淀的蛋白再同前重新溶解于约400mL水中，加足够量的1mol/L氢氧化铵使pH为6.6～6.7（如要加速溶解，可加过量碱使达pH7.5～8.0,溶解后，再滴加1mol/L硫酸再回调到pH6.6～6.7）。量取澄清的黄色溶液，溶液移至一个1.5 L三角烧瓶内。在缓慢机械搅拌下用有刻度的分液漏斗或滴定管滴加等容的预先用浓氨水调节至pH6.6～6.7的饱和硫酸铵溶液。加入的速度可以相当快直至溶液中出现永久性浑浊；然后减慢至约2mL/min。沉淀是无定形的；离心后弃去沉淀(或进行纯化)。加晶种至上清液，结晶可能马上开始或稍加饱和硫酸铵溶液后，出现（结晶所需准确的硫酸铵浓度比较难以标明，因为它有赖于多种因素，如：蛋白浓度以及杂质的存在。蛋白浓度高时，在50%硫酸铵饱和之前已开始结晶；蛋白浓度低些的溶液，需55～60%饱和度。无定形沉淀可离心后，再进行纯化)。第二份饱和硫酸铵溶液（等于第一份的量）量出，慢慢滴加（约1mL/min）进去。当盐浓度达到2/3饱和度时结晶基本上完全。结晶α-乳白蛋白离心，母液弃去。

提纯方法　α-乳白蛋白结晶溶于最小量水中。加0.5 mol/L硫酸调至pH 4使重沉淀。离心，沉淀的蛋白溶于水和氢氧化铵，再如前在pH6.6～6.7结晶。产率一次重结晶α-乳白蛋白18.5g。无水、不含盐蛋白（52 L乳清从68 L撇去乳清的牛奶)。

离心后，结晶蛋白形式稍带一点母液和少量甲苯或以无定形沉淀在pH4.5在水和甲苯下保存于冰箱中。如果需要干燥、不含盐制剂，可把pH4.5无定形沉淀透析，然后冷冻干燥。

贮存　-20℃。

参考文献

〔1〕 Westerfeld W. W., "Biochemical Preparations", Vol. 4, John Wiley and Sons, Inc., New York; Chapman and Hall, Limited, London, 16～23, 1955.

β-乳球蛋白（牛奶）　Ⅱ-3(1)-0029

β-Lactoglobulin

分子量　35000～42000

理化性质　氮含量15.60%，硫含量1.60%，可滴定的巯基团（如CysH）1.30%，PI5.1～5.2，电泳速率（1%浓度，巴比妥缓冲液(pH8.4)，$\mu=0.1$）$-5.1\times10^{-5}cm^2/v/s$。$[\alpha]_D^{25}$（在醋酸缓冲液(pH4.8)，$\mu=0.1$）$-30.4°$，$A_{1cm,280nm}^{1\%}$ 9.3。

制备方法[1]　以牛奶为原料，用硫酸铵分级，取43～80%饱和部分。彻底透析，调pH至等电点，并加入晶种，β-乳球蛋白结晶。从稀的氯化钠中重结晶。开头的第二天操作应在早上进行。

第一天：20 L撇牛奶温至28℃，加入化学纯的硫酸铵6240 g❶使达43%饱和度。

加入硫酸铵时，奶要用机械搅拌剧烈地搅动，不致产生泡沫。用30分钟，大块必须弄碎。当所有盐溶解后，温度应接近25℃。

混合物用2只30cm直径玻璃漏斗折迭滤纸过滤。在滤纸与漏斗间放双层纱布可加速过滤。第一部分滤液可反复过滤直至滤清。下班前所有待滤混合液必须加到漏斗内滤过夜。此时沉

❶ 计算应加入1L上述奶的水中硫酸铵量以达43%饱和：在25℃，硫酸铵在1kg水中的溶解度为770g。因为1L上述奶重1035g，含90g固体，那末使奶中的水达43%饱和需要 $770\times\frac{1035-90}{1000}\times0.43=312$g硫酸铵。

淀弃去。

第二天：量滤液，并同前缓慢加入硫酸铵（238g❶/L滤液）使达80%饱和度。

同前法用新的硬质滤纸在玻璃漏斗上过滤。过滤完毕后，从滤纸上刮下沉淀放入烧杯内，在搅拌下加入等体积水，液体置纤维素透析袋（每只1×45.72cm），每只袋只装$\frac{1}{3}$，内加1～2mL甲苯。袋放入2L量筒内，对约等量的蒸馏水透析。每隔1小时换一次水，共换3次；同时袋内制品常常倒过来以混匀。

透析袋对蒸馏水在0～5℃透析过夜。可以（1）把袋放入20L蒸馏水中或（2）把袋放入量筒内，蒸馏水从蓄水瓶中慢慢流入量筒内。

第三天：继续透析，换2次水；或者重新装满蓄液瓶。隔一段时间把透析袋混匀可加速透析。

第四天：从袋中取出透析液，用定性硬质滤纸过滤，如果需要，pH调至6.4～6.9。溶液再装入袋内，每袋加1～2mL甲苯，挂在一暖流空气中隔膜蒸发直至总容积减少至约350mL。(从原来容积2L蒸发8小时至900mL。继续操作下去对得到4次重结晶的β-乳球蛋白)。透析袋在蒸发时，可经常倒过来以增加蒸发速度。温度不能升至15～17℃以上。从袋中取出透析液，pH用1mol/L盐酸（约15～20mL）调到正好5.17，制剂放入新透析袋中加1～2mL甲苯。同前方法透析。

第五天：制剂从透析袋中取出，通过定性滤纸过滤；如需要，pH再调准至5.17。制剂放入一透析袋中，加入β-乳球蛋白晶种，1～2mL甲苯。继续在量筒中对水透析，隔6～12小时换一次水。

第六天：没有结晶形成或仅有很少结晶，再检查一下pH；袋内再加晶种，继续透析。

以后几天　透析继续直至从母液中不再有结晶分离出来为止。挤压透析袋使结晶沉下（透析袋挂直），底部再扎以分离结晶。

提纯方法　结晶悬浮于约300mL蒸馏水中，氯化钠以一小撮一小撮地加入直至所有结晶溶解；悬浮液通过定性滤纸过滤，如果需要，pH调至5.17，放入透析袋中加1～2mL甲苯，加入晶种并立即对冷蒸馏水透析。制剂至少应重结晶4次。应在湿结晶上面盖以甲苯保藏，或冻干之。

最后产率可从最后一次结晶之前与之后的溶液中氮含量的差测定。氮含量×6.38＝蛋白。4次重结晶的蛋白产量约为20～30g/20L撇去乳清之牛奶。

---

❶ 计算应加入1L43%饱和滤液水中的硫酸铵量以达饱和度0.80；滤液重1160g/L(实验值)。1L乳清重1020g并含55g固体。因而使1L乳清中的水饱和度达0.43需要

$$770\times\frac{1020-55}{1000}\times0.43=319\text{g硫酸铵}$$

1L滤液含$1160-\left(1160\times\frac{319}{1020+319}\right)=884\text{g乳清}$

$$884\times\frac{1020-55}{1020}=836\text{g的水}$$

因此，要使1L滤液中的水达80%饱和度需要$770\times\frac{836}{1000}\times(0.80-0.43)=238\text{g硫酸铵}$

43%饱和度相当于2.15mol/L，分级饱和度＝0.52；80%饱和度相当于3.50mol/L，分级饱和度＝0.86。

贮存 0～+5℃。

参 考 文 献

〔1〕 Westerfeld W. W.: "Biochemical Preparations", Vol. 4, John Wiley and Sons, Inc., New York; Chapman and Hall, Limited, London, 23～29, 1955.

肌红蛋白（马心） Ⅱ-3(1)-0030

Myoglobin (equine heart)

分子量 17800(马心)；17200（鲸精）

理化性质 Fe（主要是高铁肌红蛋白，Fe^{3+}型）～0.3%。

理化参数 e_{409}/e_{280}～4.5。

制备方法[1]

四只马心，机械绞碎，肌肉组织用水抽提，溶液中和，并以$\frac{1}{5}$其体积的饱和碱式乙酸铅处理，以除去肌肉球蛋白和其他杂质。经过离心后，溶液再一次中和，并加入足够量的固体磷酸三钠以除去过量的铅。加入固体磷酸二氢钠使pH再次转为7.0，溶液离心。特别重要的调节pH至7.0以求得到最高产量。温度在整个操作中越靠近0℃越好。高铁肌红蛋白溶液进一步通过结晶纯化，用硫酸铵使溶液饱和，随后溶于pH6.8的 3mol/L 磷酸缓冲液中。这一处理把高铁肌红蛋白和任何痕量的血红蛋白分离，由于血红蛋白几乎不溶于这样浓度的磷酸缓冲液。

最后，产物溶于所需的缓冲液，痕量的硫酸铵透析除去，产物保存于0℃。平均产量1.1g高铁肌红蛋白/kg心肌。样品的浓度和纯度依照De Duve方法〔"Haemoglobin", 125, London: *Butterworth*, (1949)〕测定。

肌红蛋白溶液用高浓度缓冲液保存，按Brook，〔*Proc*. Roy. Soc. B, 118, 560(1935).〕方法，用的缓冲溶液磷酸氢二钾和磷酸二氢钾（$HPO_4^{-2}/H_2PO_4^{-1}$比为0.159/0.841），其磷酸盐总浓度为0.6mol/L，在30℃时pH为5.69。用此高浓度缓冲液的优点是避免实验时的微生物污染和pH变化。后者尤为重要，因为氧化的速度与氢离子浓度有关。

用途 可用作标准分子量蛋白。

贮存 0～+4℃。

参 考 文 献

〔1〕 George P. and Stratmann C. J.: *Biochem. J.*, 51, 103(1952).

肌 球 蛋 白 Ⅱ-3(1)-0031

Myosin

分子量 220000

理化性质 肌球蛋白是一棒状分子，其长度约为1600Å，直径为不规则者（约为15～20Å）。它具有腺三磷酶的活力。

制备方法[1]

1. 兔骨骼肌，按Szent-Györgyi[2]方法制备。在第二次"结晶"前，肌球蛋白在0.6mol/L氯化钾中用纸浆过滤。为了除去存在于重沉淀的肌球蛋白中少量的肌动蛋白，采用硫酸铵分级分离（在0℃进行）。饱和硫酸铵溶液要用氢氧化铵调节至pH6.5，含有0.01mol/L EDTA，搅拌加入至肌球蛋白沉淀中。开始加时，引起凝胶出现，在约30%饱和时，盐析开始，出现浑浊。加至40%饱和时离心。肌球蛋白在上清液中，加硫酸铵至50%饱和，离心。沉淀在冰箱对快速更换的蒸馏水透析。然后蛋白用所需要的溶剂使溶解，并对之透析（换几次）使成酶溶液。

2. 兔肌用3倍0.5mol/L氯化钾，0.1mol/L磷酸氢二钾抽提20或30分钟，然后捣碎0.5分钟。离心。上清液加10倍水得肌球蛋白A和B沉淀。重溶解于0.5mol/L氯化钾中再调节至pH6.7～6.8，再加0.28mol/L氯化钾后，析出沉淀（肌球蛋白B），除去。上清液进一步稀释至0.04mol/L氯化钾得肌球蛋白A。后者重溶解于0.5mol/L氯化钾后，按1.法进行硫酸铵分级分离。取40～50%硫酸铵饱和度的沉淀。沉淀重溶于0.5mol/L氯化钾，对0.5mol/L氯化钾透析过夜。

贮存　-0℃，但不低于-20℃。

参考文献

[1] Kielley W, W. and Bradley L. B.; *J. Biol. Chem.*, 218, 653(1956).

[2] Szent-Györgyi, A.; "Chemistry of Muscular Contraction" Academic Press, N. Y. 1947.

鱼精蛋白　　Ⅱ-3(1)-0032

Protamine

分子量　5000～10000

理化性质　一种碱性蛋白质，水解后产生碱性氨基酸。与核酸结合存在于鱼的精子中。鱼精蛋白含几种氨基酸。各种来源的鱼精蛋白都含有精氨酸、丙氨酸和丝氨酸；它们的大多数含脯氨酸和缬氨酸；许多含甘氨酸和异白氨酸。个别的鱼精蛋白含组氨酸、赖氨酸、苏氨酸、天冬氨酸和谷氨酸。酪氨酸和色氨酸是不存在的。

碱性反应。溶于水、稀酸和氨水。遇热不凝固。

理化参数　pI10～12.42，因不同的鱼而异。

制备方法[1]

1. 鱼精核的制备　最好的起始原料是新鲜的挤出鱼精，可以在鱼品孵卵中取自鲟鱼，要小心不要有血或粪便的污染。200条鲟鱼约得180mL鱼精。如果不马上使用，鱼精可在冷室中保存过夜，精虫活动能力不损失。收集到全量的鱼精在搅拌下，加到4L的冰冷蒸馏水中，使之进行细胞溶解约20分钟。不透明的上清液有一点黄色，可能是由于核黄素所致，而非常松的沉淀则是纯白色，并含有几乎都有的核。溶于500mL水中，并均匀地分散，用几层纱布过滤，分小部分捣碎约3分钟使成匀浆。合并匀浆，离心3000转/分钟。很松的核沉淀反复用蒸馏水洗涤并离心直至洗涤液不产生色氨酸反应。得到非常纯的核；可是，损失也相当大。如果用0.005%柠檬酸悬浮，上清液是清的，但核则粘在一起。最好马上用掉此制剂。如要保存，可用丙酮和乙醚干燥。

2. 核酸鱼精蛋白的制备　鲟鱼精核几乎只含鱼精蛋白和脱氧核糖核酸，即核酸鱼精蛋白。

从180mL鲟鱼鱼精所得的湿的含核物质溶于2000mL 10%氯化钠溶液中，并短暂地捣碎，它立即溶解，不留下任何残渣（如果用丙酮干燥的核，有少量不溶的残渣）。溶液置冰浴中搅拌12小时。加入9倍水至此溶液中时，整个核酸鱼精蛋白以长线状沉淀，可以用玻璃棒绕出来并用水洗涤。进一步用乙醇洗涤，用乙酸干燥。

3. **鱼精蛋白盐酸盐** 干燥和粉碎的核酸鱼精蛋白用冰冷的0.2%盐酸分小分抽提数次。1.5g核酸鱼精蛋白需约150mL酸。抽提液用20倍丙酮处理。开始时，溶液仅变浑浊，但在4℃放置12小时后，鱼精蛋白盐酸盐在容器壁上。收集后，溶于少量水中，结冻后冷冻干燥。

贮存 −20℃。

参考文献

〔1〕 Felix K.: *Advances in Protein Chemistry*., 15, 1, 1960.

A蛋白（金黄色葡萄球菌） Ⅱ-3(1)-0033

Protein A(*Staphylococcus aureus*)

分子量 42000

理化性质 一种多肽，含378±6个氨基酸残基，少于0.2%己糖。能与免疫球蛋白结合，其性能以结合能力的多少来表示。正常人γ-球蛋白与A蛋白沉淀，即IgG：A蛋白（摩尔比）为2.1∶1。

理化参数 $A_{276}^{1\%}$1.65。

制备方法[1]

1. **粗抽提液** 300g湿*Staphylococcus aureus*细菌悬浮于3L 0.05mol/L Tris-HCl，0.145mol/L氯化钠（pH7.5）中并放在37℃振动水浴的平台上。当细菌悬浮液到达37℃后，15mg溶葡球菌酶和数mg脱氧核糖核酸酶加入保温液中。取样用0.9%氯化钠稀释，测定520nm光吸收以观察水解程度。吸收值在约2小时后成为恒定。悬浮液离心（4℃），沉淀用蒸馏水洗1次。

2. **硫酸铵沉淀** 合并2次上清液，用5mol/L盐酸调至pH3.5。再离心（4℃），上清液用5mol/L氢氧化钠调节至pH7.0。加固体硫酸铵至饱和度0.80（550g/L上清液）。形成的沉淀离心收集，溶于约300mL蒸馏水，在4℃对水透析1天（换几次水）。

3. **DEAE Sephadex层析** 透析时有小量沉淀，离心除去。加碳酸氢铵直至达0.1mol/L。样品注入DEAE-Sephadex柱（5×25cm），流速60mL/h。柱用约500mL 0.1mol/L碳酸氢铵洗涤，样品用线性梯度（1L 0.1mol/L和1L 0.4mol/L）碳酸氢铵（pH8.0）洗脱。收集各份，测定导电度，A_{280nm}和蛋白浓度。合适的部分用免疫扩散法和聚丙烯酰胺电泳测定A蛋白对正常人IgG在琼脂糖凝胶的作用。

4. **Sephadex G-100层析** 含强和弱A蛋白活性的A与B部分分别合并。A部分用PM-10膜超滤浓缩，并注入Sephadex-G 100柱（5.5×120cm）在0.05mol/L Tris-HCl，1.0 mol/L氯化钠（pH8.0）进行上行洗脱，流速45mL/h，采用蠕动泵。B部分的A蛋白浓度较低，将几次DEAE-Sephadex层析B部分保存于−30℃直至有足够量再上Sephadex G-100柱。

A部分在Sephadex G-100柱层析得二个峰，第二峰含A蛋白（用免疫扩散和圆盘电泳测定）。

一次层析不能分得好。几批中含两种蛋白部分合并，重新再上同样的柱以节约A蛋白的原料。A蛋白对蒸馏水透析并保存于－30℃或冷冻干燥。从300g湿细菌开始得A蛋白450～500mg，约为细菌中A蛋白总量的50%。

用途 可溶与不溶形式能用于免疫球蛋白的纯化，特别是各种来源的IgG，免疫测定用酶标，抗原的纯化和循环免疫络合物。

贮存 0～＋5℃。

参考文献

〔1〕 Sjöquist J., Meloun B., and Hjelm H.: *Eur. J. Biochem.*, 29, 572(1972).

铁传递蛋白 Ⅱ-3(1)-0034

Transferrin

分子量 75000～80000(血清)

76000～77000（伴清蛋白）

理化性质 在大多数脊椎动物血清中（血清铁传递蛋白），在蛋白中(伴清蛋白）和在哺乳类动物奶中（乳铁传递蛋白）发现的非血红素、铁结合的糖蛋白。每一蛋白分子专一地和两个Fe^{3+}离子结合，形成粉红色络合物；这些颜色络合物的形成涉及HCO_3^-和CO_3^{2+}。

血清铁传递蛋白，β_1-金属结合蛋白。通常称铁传递蛋白。人血清铁传递蛋白分子量为约80000。人血清高铁铁传递蛋白的吸收高峰：约465$_{nm}$($A^{1\%}_{1cm}$0.57)；紫外高峰：280$_{nm}$($A^{1\%}_{1cm}$14.3)。在血液中运输铁。

伴清蛋白铁传递蛋白 分子量约77000。从蛋清中分离。它比卵白蛋白的对热凝固点低。高铁络合物的吸收高峰：470$_{nm}$($A^{1\%}_{1cm}$0.62)。

制备方法[1,2,3]

血清铁传递蛋白（猪）

1．用Mohr's盐处理 采用猪血清，用等体积的水稀释。然后加入Mohr's盐（Fe^{2+}，6mg Fe/L）以满足饱和铁结合组分对铁的需要。

2．硫酸铵分级 在充分搅拌下，加入用氨水中和过的饱和硫酸铵溶液至上述血清溶液中，直至硫酸铵最终浓度饱和度达0.60。通过一根细玻璃管浸入血清中加入硫酸铵溶液，其速度调节至约需数小时才到达此浓度。沉淀在室温进行，饱和硫酸铵亦在此温度制备。继续搅拌数小时，然后静置过夜。离心，约有90%铁结合组分存在于溶液中。

硫酸铵浓度增加至饱和度达0.75，混合液放置到第二天，过滤分离沉淀。沉淀主要含有白蛋白，含铁蛋白，少量的球蛋白和血红蛋白。取此沉淀溶于水中，对自来水透析2天使之去盐。透析液和乙酸钠-乙酸（pH4.8）搅拌混合使混合液的pH为5.2(用玻璃电极测)。溶液的比阻不应低于1000欧姆（控制盐浓度，低离子强度有利于分离)。

3．乙醇分级(20%) 把上述溶液温度降至0℃。在连续搅拌下通过一浸入溶液中的细玻璃管缓慢地加入－5℃的60%(*v/v*)乙醇。整个过程维持在4℃之下。当混合液中乙醇浓度到达20%(*v/v*)时，停止加入乙醇。为了避免铁传递蛋白的部分解离，加入Mohr's盐（1mg Fe^{2+}/L蛋白液)。有很明显的沉淀。混合液在4℃放置过夜，沉淀在冰箱中过滤，所得溶液颜色鲜红。

4．乙醇分级(25%) 在上述滤液中增加乙醇浓度至25%(*v/v*)，所得沉淀在－3至－5℃

放置24小时后再过滤。主要是在母液中含铁蛋白。把母液温度降至－12℃，含铁蛋白以一漂亮的红色沉淀沉下来，第二天离心（－12℃）分离。这样得到的沉淀中10%为含铁蛋白，其余为白蛋白。可以溶于水，对流动自来水透析24小时以除去乙醇。在结冻状态下，含铁蛋白溶液能保持性质上的不变。等电点为pH4.4。透析溶液称Ⅰ部分。

5. 再次乙醇分级(25%)　上述清液中的乙醇浓度增加至25%(v/v)。在－12℃放置24小时后，离心(－12℃)。沉淀的30～50%为铁传递蛋白。沉淀溶于水，对流动自来水透析24小时，得Ⅱ部分。

6. 乙醇分级(28%)　上述清液中的乙醇浓度增加至28%(v/v)。沉淀含铁传递蛋白，一个具有类血色原光谱的β_1-球蛋白和一个α_1-球蛋白。沉淀溶于水中并对流动自来水透析24小时。此透析溶液称Ⅲ部分。

7. 氯仿-乙醇沉淀　铁传递蛋白能从Ⅰ、Ⅱ和Ⅲ部分经过用氯仿-乙醇沉淀后再用下述方法分离而得。从Ⅱ部分中得到的产量和质量最高。

透析蛋白溶液的pH用1mol/L乙酸缓冲液（pH5.5）调节至6.0，并加入Mohr's盐(50μg Fe^{2+}/g蛋白)。溶液用水稀释至蛋白浓度为约4%，溶液冷至0℃。

250mL氯仿-乙醇溶液（1份氯仿和9份95%乙醇）在剧烈搅拌下快速地加到每1L的蛋白液中。混合液在30分钟内在0℃离心。大部分的铁传递蛋白存在上清液中。冷却至－5℃，并在不断搅拌下进一步逐断加入氯仿-乙醇(175mL/L上清液)，溶液的温度必须不高于0℃。混合液在－5℃用角式离心机离心。铁传递蛋白的主要部分在沉淀中。沉淀悬浮于水中，并立即在20℃离心10分钟。上清液含铁传递蛋白（A部分）。

最后用氯仿-乙醇沉淀的上清液含有一些铁传递蛋白和具有类血色原光谱的蛋白的主要部分。加10% $CaCl_2$(10mL/L）至上清液中以沉淀二者。溶液在－12℃放置24小时后，在－10℃离心。沉淀（B部分）悬浮于蒸馏水中。

8. 结晶　如果上述A部分中90%以上的蛋白为铁传递蛋白，可以制成结晶。如果铁传递蛋白不到此浓度，重复7.步骤可保证此纯度。小心地加入乙醇至pH7.5～4.5，低离子强度，0℃的铁传递蛋白溶液（至少5%）中，铁传递蛋白将会结晶。在pH～6时，结晶最快出现。

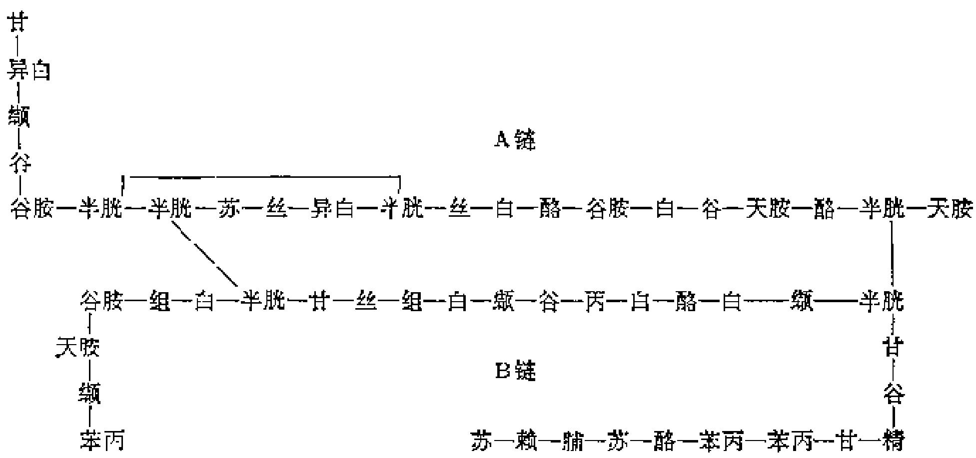
参考文献

〔1〕 Laurell C. B. and Ingelman B.: *Acta chem. Scand.*, 1, 770(1947).
〔2〕 Laurell C. B.: *Acta Chem. Scand.*, 7, 1407(1953).
〔3〕 乳铁传递蛋白
人乳: Johansson B. G.: *Acta Chem. Scand.*, 23, 683(1969).
兔乳: Baker E., Shaw D. C. and Morgan E. H.: Biochemistry., 7, 1371(1968).

胰岛素　　Ⅱ-3(1)-0035

Insulin

分子式　人胰岛素



分子量 6000

理化性质 胰岛素是第一个蛋白质其化学结构和精确分子量被测定。所有结晶胰岛素制剂含少量重金属，例如：锌，镍，钴或镉作为分子的一个组分。六面体结晶，通常得到扁菱形六面体含0.4%锌。易溶于稀酸和碱。在稀酸中以二聚体存在；在30%乙酸中以单体存在。在pH4.5～7.0中完全不溶解。含2%锌的结晶（从含过量锌离子的pH7乙酸缓冲液）溶解性能低，并有延缓作用。

理化参数 等电点5.30～5.35。

制备方法[1] 胰岛素可以用分离法从动物脏器中制得，也可用合成法。由于大多数合成法产率低，因此人们消耗的胰岛素来自屠宰动物的胰脏。

一、分离法 牛、猪胰脏用作原料。腺体在屠宰动物后，立即使用或在－15℃速冻待用。

1．预处理

（1）结冻腺体；100g结冻胰脏绞碎至溶液（9ml蒸馏水，48mL 95%乙醇和1.2mL浓硫酸）中，搅拌混合物，加热至25～28℃，并加到混合溶液（66mL蒸馏水和272mL 95%乙醇）中。悬浮液的pH应在1.5～2.0。在25～28℃搅拌1小时，上清液离心收集。沉淀在混合液（66mL蒸馏水，133mL 95%乙醇和0.5mL浓硫酸）中搅拌1小时。搅拌后混合物离心，上清液合并到第一次抽提收集上清液中。弃去抽提过的组织。合并的上清液通过粗滤纸过滤以除去悬浮的脂质物。清的滤液用浓氢氧化铵调节pH至3.0。然后倒入到1.8L冷无水乙醇中。加于乙醚（7.2L）至乙醇溶液中，充分混匀后的混合物置0～5℃过夜。通过倾泌掉上清液，然后刮容器的底和壁以得到悬浮液，离心收集粗胰岛素沉淀。沉淀用100mL丙酮洗涤，然后用2×50mL无水乙醚洗涤。沉淀置真空干燥器中以除去剩余溶剂。

（2）新鲜腺体；刚从动物身上采得的胰脏立即浸入冰浴中。冷却后剥去脂肪和结缔组织，在绞肉机内绞碎。照结冻腺体方法进行抽提。

2．胰岛素晶种原纤维的形成 加热5mL 2%（以重量计）胰岛素在0.05mol/L盐酸中，溶液在100℃加热3分钟。最好把胰岛素溶液封在薄壁玻璃安瓿或试管中。要注意快速加热和快速结冻。胰岛素溶液浸入干冰-丙酮混合液内迅速结冻。结冻后，溶液解冻，反复加热一分钟-结冻-解冻过程共10～12次。此原纤维只有结冻保存才稳定，应该在刚使用前解冻，并以0.05mol/L盐酸稀释成1:10。原纤维是非常短，几乎是球形的，并且每批大小稍有差异。

3．胰岛素以原纤维形式沉淀 在1.中从乙醚-乙醇沉淀所得干残渣溶于25mL 0.025 mol/L硫酸中，小量不溶物离心除去，加0.4mg晶种原纤维（0.2mL稀释的悬浮液）至上清液

中。混合液在46～48℃搅拌或快速振摇4.5小时。保温时溶液变成浑浊。离心收集沉淀，小心地用 3×10 mL 0.025mol/L硫酸洗涤。残留物依次用2×10mL冷无水乙醇和10mL 干乙醚洗涤。

4．胰岛素纤维的再生　胰岛素纤维沉淀用冷(0℃)0.05mol/L 氢氧化钠处理20～30分钟。冷的碱溶液离心以除去小量不溶物，用0.03mol/L磷酸或0.1mol/L盐酸调节pH至6.5。将此溶液透析即得无盐制剂。

质量：最后溶液含23～26胰岛素活力单位/mg蛋白。

5．胰岛素的纯化[2]　原料纯度为24～25国际单位/mg。用3g结晶进行重结晶。长时间离心时在结晶上面有很薄的一层无定形物质，小心除去。温的沉淀溶于100mL 0.025mol/L盐酸中，溶解后立即加入2g氯化钠。此步使变性物和一些胰岛素沉淀。溶液立即离心，再加8g氯化钠至上清液中。离心，沉淀溶于500mL水中，调pH至5。沉淀从乙酸缓冲液中结晶。结晶用水反复洗涤，长时间离心没有无定形物出现。结晶置真空干燥器内，在硫酸上干燥。产量1.3g。从另一批5g，得3.1g纯结晶。

纯胰岛素的活力每毫克为26.8±0.8国际单位。

合成方法　我国科技工作者在1964年发表了人工全合成牛胰岛素，并获得有活力的制剂。详细的方法可参考　纽经义等，*Scientia Sinica*(Peking)., 13, 1343(1964); 14,1710(1965).

贮存　－20℃。

参 考 文 献

〔1〕 Vestling C. S.: "Biochemical Preparations", Vol. 6, John Wiley and Sons, Inc., New York, Chapman and Hall, Limited, London, 28, 1958.

〔2〕 Lens J.: *Biochim Biophys. Acta.*, 2 76(1948).

第二节　凝 集 素

麦 胚 凝 集 素　　Ⅱ-3(2)-0001

Wheat germ agglutinin

别名　Wheat germ lectin; Agglutinin(Jriticum vulgare); WGA

分子量　约17000

理化性质　凝集素是一类与糖专一结合的蛋白质或糖蛋白，广泛分布于植物、动物、微生物乃至病毒，是研究糖复合物非常有用的一类工具。

麦胚凝集素的糖专一性为三-*N*-乙酰-D-氨基葡糖（*N*,*N*′,*N*″-三乙酰壳三糖）。血细胞凝集作用是不专一的。对大多数类型的恶性细胞能凝集。

本法制得的麦胚凝集素相对多肽分子量而言是均一的。它具有1个封头的氨端，并不具水解酶和β-*N*-乙酰氨基葡糖苷酶的活力。

理化参数　$A_{280nm}^{1\%}$14.3。

制备方法[1]　麦胚购自食品店。几丁质为研磨碎的蛤壳（Sigma公司出品），在咖啡研磨器中进一步研磨数分钟，依次用水、0.05mol/L盐酸、1%碳酸钠和乙醇彻底地洗涤直至洗涤液的A_{280}读数小于0.05。装柱，预备实验床体积为4mL，或大规模制备为800mL。

1kg粗麦胚磨碎，用10L 0.05mol/L盐酸抽提1小时(室温)。混合物离心（2000×g，10

分钟），抽提液加硫酸铵至饱和度0.35。离心（10000×g，15分钟）收集沉淀，悬浮于1L 0.05 mol/L盐酸中，对水充分透析，然后再对0.01mol/L Tris-HCl(pH8.5) 透析。溶解部分与在砂芯漏斗内的400mL DEAE-纤维素混合，不久之后抽气收集洗出液。树脂反复用0.01 mol/L Tris-HCl(pH8.5) 洗涤，直至仅有可忽略的凝集活力被洗脱。含有活力的所有部分合并，上几丁质柱。

几丁质柱先用含1mol/L NaCl的0.01mol/L Tris-HCl，(pH8.5) 展层。此溶液洗脱那些或不与柱结合或非专一性结合的蛋白。柱用0.01mol/L Tris-HCl洗以除去氯化钠。如果省略此步，则后面几步只能回收非常少量的麦胚凝集素，可能是由于蛋白质在基质上沉淀的原故。最后用0.05mol/L HCl洗脱柱，随着pH的下降，麦胚凝集素被洗脱下来。含凝集活力的部分合并。

上述蛋白部分用硫酸铵沉淀至饱和度0.35。沉淀悬浮于0.05mol/L HCl中，并对之透析过夜，然后上预先用同样溶剂平衡的Sephodex G-50柱。此凝胶过滤步骤把麦胚凝集素和几种非凝集性的高分子量杂质分离。

纯化总结

步骤	比活，U/mg	总蛋白质，(注)mg	总活力，单位
HCl抽提	11.4	1.47×10^5	1.68×10^6
DEAE-纤维素	310	4.67×10^3	1.45×10^6
几丁质	1800	4.91×10^2	8.85×10^5
Sephadex G-50	1790	3.34×10^2	5.98×10^5

〔注〕蛋白质浓度用A_{280}测定，假设所有蛋白质的消光系数与麦胚凝集素的消光系数相同。

贮存 －20℃。

参考文献

〔1〕 Bloch R. and Burger M. M.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 58, 13(1974).

同工凝集素A_4(B. Simplicifolia种子) Ⅱ-3(2)-0002

Isolectin A_4(Bandeiraea simplicifolia seeds)

凝集素A_3B Ⅱ-3(2)-0003

Isolectin A_3B

凝集素A_2B_2 Ⅱ-3(2)-0004

Isolectin A_2B_2

凝集素AB_3 Ⅱ-3(2)-0005

Isolectin AB_3

凝集素B_4 Ⅱ-3(2)-0006

Isolectin B_4

别名 BS-IA_4

BS-IA_3B

BS-IA_2B_2

BS-IAB_3

BS-IB_4

分子量　A为32000；B为33000

理化性质　BS-I是一糖蛋白（分子量114000），含有四个亚基。它的家族有5个四聚体的同工凝集素，A_4，A_3B，A_2B_2，AB_3和B_4。A和B是两种不同的糖蛋白亚基，A亚基不含甲硫氨酸而B亚基含1个甲硫氨酸残基，它们具有不同的结合专一性。A亚基对αDGalNAc最专一，也和αDGal反应，而B亚基则仅对αDGal专一。

制备方法[1]　（A_4）和（A_3B）用Bio-Gel蜜二糖酯层析柱纯化；（A_2B_2），（AB_3）和（B_4）用固定化血型A层析柱分离。

100g Bandeiraea Simplicifolia种子研磨碎，抽提，并按Hayes and Goldstein[2]方法用硫酸铵分级沉淀。硫酸铵沉淀透析后上Bio-Gel蜜二糖酯柱（2.6×20cm），柱预先用磷酸盐-缓冲生理盐水/p_i平衡，收集每管5mL。B. Simplicifolia I同工凝集素（A_4）用含1.4mmol/L D-GalNAc的缓冲液洗脱；（A_3B）在D-Gal NAc浓度增加到6.8mmol/L时，被洗脱下来；而（A_2B_2，AB_3和B_4）用5mmol/L甲基-α-D-Gal洗脱。

合并（A_2B_2，AB_3，B_4）部分，用超滤膜（PM-10 Amicon公司）浓缩，对盐/p_i透析直至不含糖。透析后混合物上柱。柱为按Etzler和Kabat[3]制备的固定化A型+H猪粘蛋白和5倍的硅藻土混合（PLA柱，2.1×10cm）；收集每管8mL。BS-I同工凝集素（B_4）通过此柱，而（AB_3）则轻微地受阻滞。（A_2B_2）用50mmol/L甲基α-D-Gal从柱上洗脱下来。凝集素的各组分分别合并，用超滤膜浓缩，对盐/p_i透析直至不含糖。

贮存　-20℃备用。

参考文献

〔1〕 Murphy L. A. and Goldstein I. J.: *J. Biol. Chem.*, 252, 4739(1977).

〔2〕 Hayes C. E. and Goldstein I. J.: *J. Biol. Chem.*, 249, 1904(1974).

〔3〕 Etzler M. E. and Kabat E. A.: *Biochemistry.*, 9 869(1970).

伴刀豆球蛋白A(巨豆)　　Ⅱ-3(2)-0007

Concanavalin A(canavalia ensiformis, jack beans)

别名　Con A

分子量　71000

理化性质　伴刀豆球蛋白A是不含糖蛋白。它是由分子量为25500的亚基组成的四聚体。当溶液pH为5.6以下时，解离为二聚体。Con A的单体（亦称完整亚基）由237个氨基酸组成，分子中有大量的β-结构，57%的氨基酸组成二个反平行褶迭层。每个单体结合一个Ca^{2+}和一个Mn^{2+}，并有一个糖结合部位；当两个结合金属离子的位点未填满前，ConA分子不与糖结合。如果在单体的118位和119位氨基酸间被解离，得到两个片段（称片段亚基）。用通常方法制备的Con A往往是由不同比例的完整亚基和片段亚基组成的聚合体，但它们的活性相同。Con A不含半胱氨酸。

理化参数　$s_{20,w}$为6.0S。

制备方法[1]

ConA的纯化　采用除去脂肪的巨豆粉（Sigma公司产品）作原料，用Sumner and Howell[2]方法制得3次结晶的ConA。利用ConA与葡聚糖的专一反应把惰性杂质除去[3,4]。

结晶的ConA用乙酸处理（见后面）后，溶于含有10^{-3}mol/L$CaCl_2$和10^{-3}mol/L$MgCl_2$的

0.01mol/L Tris缓冲液(pH7.4)中,注入已经用同一缓冲液平衡过的Sephadex G-100柱(1×12cm)。Ca和Mg加到缓冲系统中，因为二价金属能提高ConA的活力。流速10mL/h，每管收集3mL。用Tris缓冲液洗脱柱直至流出液的 $A_{280nm}<0.02$。此时换用pH2.0的0.02mol/L甘氨酸-HCl缓冲液洗脱。流出液收集到盛有1mL0.075 mol/L Tris缓冲液（pH8.6）的管中，以中和酸性的流出液。用胰蛋白酶处理过的兔红血球检查各管的血细胞凝集活力，合并有活性的管子，对去离子水透析，并冷冻干燥。

ConA也能直接从巨豆粉抽提液纯化，通过交联葡聚糖柱的吸附与洗脱。200g巨豆粉悬浮于500mL0.01mol/L Tris缓冲液（pH7.4）中，在室温搅拌2小时。悬浮液经纱布过滤，残渣用同样量的缓冲液重复抽提2次。所有滤液合并，离心除去不溶物。清液（1500mL）含13.5g蛋白质，注入已经用pH7.4缓冲液平衡的Sephadex G-100柱（直径6×20cm），流速60mL/h，收集每管10mL。当流出液在 A_{280nm} 测不出蛋白质时，换用0.02mol/L甘氨酸-HCl缓冲液（pH2.0）洗脱柱。每根收集管预先加入3mL0.075mol/LTris缓冲液（pH8.6）。合并有血细胞凝集活力的管子，透析，冻干。当此制剂重复通过Sephadex G-100以进一步纯化时，实验细节基本是相同的。

乙酸处理ConA：结晶的ConA仅在相当高浓度的盐溶液中才溶解，这对研究其性质是一个问题。但是，如果先用乙酸按下法处理，ConA能很容易地溶于蒸馏水。结晶ConA或上述从Sephadex上洗脱下来有活性的部分搅拌加至1mol/L乙酸中，使最后浓度为1.25%。搅拌20分钟后，离心使清。透析除去乙酸，蛋白质冻干。此步骤对ConA的血细胞凝集以及与糖结合的活性有所削弱。乙酸处理可以完全地除去一定存在未经处理的制剂中的小量糖。

ConA的纯化和回收

部分	比活HU①/mg蛋白质	总活力HU×10⁻⁵/100g巨豆粉	活力回收率%	组成，% 糖	组成，% 蛋白质	蛋白质产率 g/100g巨豆粉
粗抽提液	1032	70.0	—	—	—	6.8
活性组分（一）	2280	52.0	75	0.8	15.2	2.3
活性组分（二）	2340	36.8	53	0	15.6	1.6
三次结晶	2200	17.5	25	4.0	14.8	0.8
活性组分	2300	13.8	20	0	15.4	0.6

① HU为Liener[5]血细胞凝集单位。

贮存 -20℃保存。

参 考 文 献

〔1〕 Olson M. O. J. and Liener I. E.: *Biochem.*, 6, 105(1967).

〔2〕 Sumner J. B. and Howell S. F.: *J. Bacteriol.*, 32, 227(1936).

〔3〕 Goldstein I. J. et al: *Biochim. Biophys. Acta.*, 97, 68(1965).

〔4〕 Goldstein I. J. et al: *Biochemistry.*, 4, 876(1965).

〔5〕 Liener I. E.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 54, 223(1955).

植物血球凝集素　　Ⅱ-3(2)-0008

Phytohemagglutinin

别名 PHA; Hemagglutinin from phaseolus. vulgaris

分子量 红色豆128000；黑色豆126000；白色豆121000～132000

理化性质 此蛋白为具有刺激白细胞发育的糖蛋白，糖的部分由甘露糖等7种糖组成。白色结晶。溶于水和生理盐水中，不溶于有机溶剂，在饱和度0.5以上的硫酸铵可盐析。

理化参数

参　数	红色豆	黑色豆	白色豆
S	6.5	5.9	5.37
D	4.8		3.7
PI	6.5	4.9	5.5
v, mL/g		0.683	0.728
糖，%	3.4	5.7	10.4

制备方法[1] 2 kg 细豆粉悬浮于 20 L 蒸馏水中，搅拌 1 小时用 10% HCl 调 pH 4.6，在4℃过夜，用虹吸法抽取亮黄色液体，清液加固体硫酸铵到0.5饱和度，稍待一会离心除去沉淀。清液再加固体硫酸铵到饱和，待数小时后，离心除去清液，沉淀透析到没有SO_4^{2-}，(用$BaCl_2$溶液检查)，冷冻干燥得粗品约16 g。取3 g 冷冻干燥粉溶于20mL的0.005mol/L pH6.8磷酸缓冲液中，而后通过3×36cm的DEAE-纤维素柱分离，用0.2mol/L pH6.8的磷酸 缓冲液梯度洗脱，流速20mL/h，5mL/管收集用 280nm波长测定蛋白，合并第一峰，透 析除 去磷酸盐，冷冻干燥后约得1 g 精品，再将250mg精品溶于10mL的5mmol/L柠檬酸 缓冲 液pH3.8中，而后通过1×50cm的CM-纤维素柱，柱用柠檬酸缓冲液平衡过，样品通 过 用 0.1mol/L pH6.8的磷酸缓冲液梯度洗脱，同法测定流出液中蛋白，第一峰为高纯PHA，得120mg。通过上述提纯方法，可提高纯度约40倍。

作为医院常规淋巴细胞培养用的PHA可用粗品，其制备方法如下：

5 g 豆于小烧杯中，加0.85%氯化钠溶液8mL，置4℃冰箱浸泡24小时，次日将其倒入研钵中，充分研细，然后加入17mL生理盐水搅拌均匀，放4℃冰箱过夜，次日离心3500转/分，离心温度低于10℃，吸取上清液，作为母液，用于淋巴细胞转化培养时要稀释10～20倍。

贮存 干燥低温贮存一年。

参 考 文 献

〔1〕 TAKAHASHI, T., RAMACHANDRAMURTHY, P. and LIENER, I. E.: *Biochim. Biophys. Acta.*, 133, 123～133(1967).

第四章　核苷酸及其衍生物

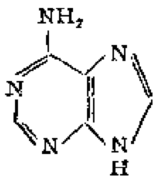
第一节　核酸碱基、核苷、核苷酸

腺　嘌　呤　　　　Ⅱ-4(1)-0001

Adenine

别名　6-氨基嘌呤6-Aminopurine

结构式



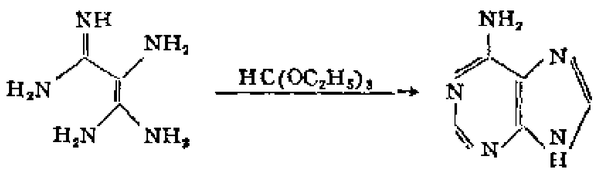
分子式　$C_5H_5N_5$　　　　**分子量**　135.13

理化性质　含3分子水的针状结晶。水中溶解度0.09 g/100 mL (25℃)；2.5 g/100 mL (100℃)；微溶于乙醇；不溶于乙醚和三氯甲烷。亚硝酸脱氨生成次黄嘌呤。硫酸盐的分子式为 $(C_5H_5N_5)\cdot H_2SO_4\cdot 2H_2O$(分子量404.37)，水中溶解度0.7g/100mL；微溶于乙醇。

理化参数　熔点360℃(分解，220℃升华)。pK<1，4.15(碱性基团)；9.8(酸性基团)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\varepsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\varepsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1～3	262.5	13.16	13.0	229	0.76	0.38	0.04
6～8	260.5	13.35	13.3	226	0.76	0.13	0.01
12	269	12.3	10.45	237	0.57	0.60	0.03

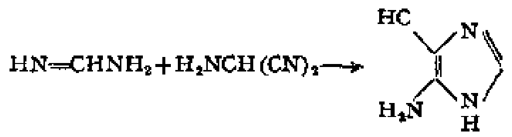
制备方法



(Ⅰ)　　　　(Ⅱ)

一[1]、2g氨基丙二脒(I, aminomalondiamidine)双盐酸盐溶于10mL原甲酸乙酯和20mL二甲基甲酰胺中，回流15分钟，减压抽干，再溶于50mL1mol/L盐酸中，用活性炭处理，过滤，用氢氧化铵调pH8，浓缩至约15mL，冷却得1.0g(72%)无色腺嘌呤(Ⅱ)。

二[2]，



（Ⅰ）　　（Ⅱ）　　（Ⅲ）

将33.2g(0.32mol)甲脒（Ⅰ）乙酸盐的100mL无水乙醇回流后，加20.24g(0.08mol)氨基丙二腈（Ⅱ）甲苯磺酸盐的240mL无水乙醇，加完后再回流1小时，减压浓缩，加50ml水，活性炭处理后，用200g的氢氧型阴离子交换树脂层析分离，收集水洗脱产物组分，浓缩后冻干，得4.2g4-氨基-5-氰基咪唑（Ⅲ）粗品，粗品溶于100mL乙腈中，用活性炭处理，过滤，向滤液中加乙醚，湿热下加7.4g含1分子水的甲苯磺酸的100mL乙腈溶液，得到的沉淀用乙腈-乙醚结晶，得8.0g(35.8%)纯品（Ⅲ）的甲苯磺酸盐，熔点168～169℃。

于1.40g(0.005mol)上述产物的100mL甲基溶纤剂（methyl cellosolve）中，加2.1g(0.02mol)甲脒（Ⅰ）乙酸盐，回流加热1小时，减压浓缩，加20mL浓氢氧化铵和80mL水，冻干，固体在甲醇中水解得0.46g(68%)腺嘌呤。

贮存　室温下贮存。

参 考 文 献

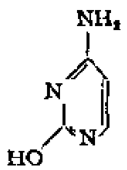
〔1〕 Richter, E. et al.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 82, 3144(1960).
〔2〕 Ferris, J. P. and Orgel, L. E.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 88, 3829(1966).

胞 嘧 啶　　Ⅱ-4(1)-0002

Cytosine

别名　2-羟基-4-氨基嘧啶；4-Amino-2-hydroxypyrimidine

结构式



分子式　$C_4H_5N_3O$　　**分子量**　111.10

理化性质　含1分子水的片状结晶（分子量129.12；熔点312℃分解），100℃失去结晶水。水中溶解度0.77g/100mL(25℃)；微溶于乙醇；不溶于乙醚。苦味酸盐320～325℃分解。

理化参数　熔点320～325℃（分解）。pK 4.6（碱性基团）；12.2（酸性基团）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\varepsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\varepsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1～3	276	10.0	6.0	238	0.48	1.53	0.78
7～10	267	6.13	5.55	247	0.78	0.58	0.08
14	282	7.86	2.35	250	0.60	3.28	2.6

制备方法

一[1]、 2g二巯基尿嘧啶溶于20mL浓氨水，封管100℃16小时，冷却，得1.1g 2-巯基-4-氨基嘧啶无色长针状结晶，母液浓缩又得0.5g，合并后，总产率91%，用浓氨水洗，然后，于70mL水中重结晶，熔点285～290℃(分解)。1g上述产物加0.7g氯乙酸和7mL水，回流45分钟，冷却，用2.5mol/L氢氧化钠中和，乙酸酸化后放置，得1.1g(80%)2-羧甲硫基-4-氨基嘧啶，于乙醇-乙酸中重结晶，熔点220℃(分解)。1.05g上述产物溶于10mL浓盐酸中，温和回流2小时，抽干，残渣用稀盐酸处理，抽干，将沉淀加5mL水和1mL氨水得0.5g(83%)发亮片状体，于10mL水中重结晶得纯品。

二[2]、 1.22g 2-酮基-4-乙氧基嘧啶加20mL0℃饱和乙醇-氨，封管120℃加热8小时，冷却，过滤得0.93g胞嘧啶，水中重结晶得纯品。

贮存 室温下贮存

参 考 文 献

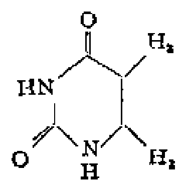
[1] Hitchings, G. H. et al.: *J. Biol. Chem.*, 177, 357(1949).

[2] Hilbert, G. E. and Jansen, E. F.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 57, 552(1935).

5,6-二氢尿嘧啶 Ⅱ-4(1)-0003

5,6-Dihydrouracil

结构式



分子式 $C_4H_6N_2O_2$ **分子量** 114.10

理化性质 0.1mol/L氢氧化钡室温1小时分解为β-脲基丙酸

理化参数 熔点275～276℃。紫外吸收数据pH 13，$\lambda_{最大}$ 230 nm，$\varepsilon_{最大}$ 8.2×10^3，$\lambda_{最小}$ 224 nm。

制备方法[1] 1.12g(0.01mol)尿嘧啶的500mL水溶液，加15g蓝尼镍，回流2小时，过滤，滤液浓缩干，于乙醇重结晶，得500mg(53%)5,6-二氢尿嘧啶。

贮存 室温下贮存。

参 考 文 献

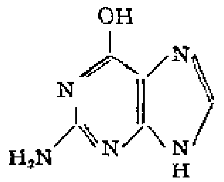
[1] Fox, J. J. and Praag, D. V.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 82, 486(1960).

鸟 嘌 呤 Ⅱ-4(1)-0004

Guanine

别名 2-氨基-6-羟基嘌呤 2-Amino-6-hydroxypurine

结构式



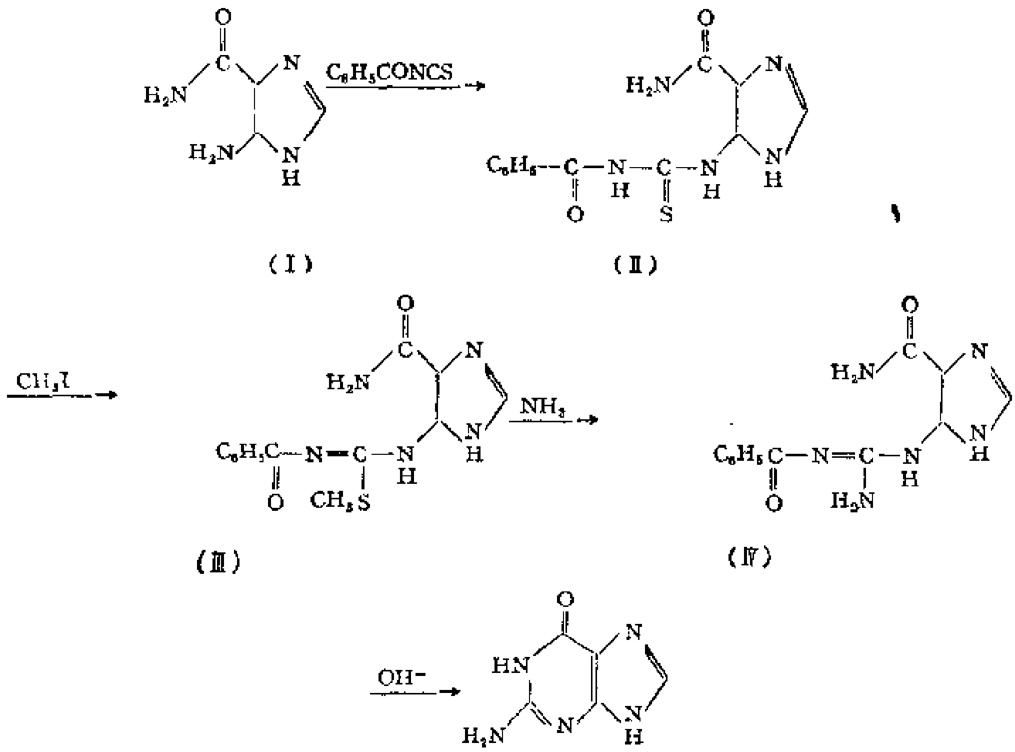
分子式 $C_5H_5N_5O$　　　　**分子量** 151.13

理化性质 自稀氨水中得无定形片状或粉末。溶于酸和碱，极难溶于乙醇；不溶于水（溶解度40℃时为0.004g/100mL）和有机酸。能与许多酸和碱形成结晶盐。盐酸盐是含1分子水的结晶。在pH1和pH11用紫外光照射产生蓝色荧光。亚硝酸脱氨产生黄嘌呤。

理化参数 熔点360℃(分解)。pK<0，3.2(碱性基团)，9.6，12.4(酸性基团)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\varepsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\varepsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1	248.5 275.5	11.4 7.35	8.0	224 267	1.37	0.84	0.50
7	246 275.5	10.7 8.15	7.2	225 262	1.42	1.04	0.54
11	246 273.5	6.3 8.0	6.4	255	0.99	1.14	0.59
14	274	9.9	7.3	240	0.81	1.24	0.61

制备方法[1]



10g(61.7mmol)5-氨基-4-咪唑酰胺（Ⅰ）盐酸盐溶于200mL水，搅拌下加5.2g(61.9mmol)碳酸氢钠中和，滴加12g(73.6mmol)苯甲酰异硫氰酸（C_6H_5CONCS），搅拌1小时，

过滤，沉淀于乙醇-二甲基甲酰胺中结晶，得15g(Ⅱ)产率85%，熔点220℃。2g(6.9mmol)(Ⅱ)溶于100mL0.1mol/L氢氧化钠用1.2g(8.45mmol)碘甲烷室温处理，搅拌2小时，用冰乙酸酸化至pH6，产物于冰乙酸中重结晶，得1.63g(77%)(Ⅲ)。2g(Ⅲ)加进含2%氨水的50mL二甲基甲酰胺中，封管120℃加热2小时，减压抽干，在乙醇中结晶得1.4g(Ⅳ)，熔点235℃。1.5g(Ⅳ)在40mL1mol/L氢氧化钠中回流3小时，用乙酸中和至pH6，过滤，收集鸟嘌呤和苯甲酸，水洗，干燥，浮悬于100mL热乙醇中，搅拌，除去苯甲酸，在小量0.25mol/L硫酸中重结晶得鸟嘌呤硫酸盐540mg产率49%。

贮存 室温下贮存。

参 考 文 献

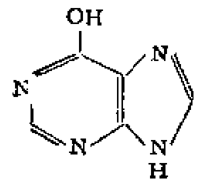
〔1〕 Yamazaki, A. et al.: *J. Org. Chem.*, 32, 1825(1967).

次 黄 嘌 呤 Ⅱ-4(1)-0005

Hypoxanthine

别名 6-羟基嘌呤 6-Hydroxypurine

结构式



分子式 $C_5H_4N_4O$ **分子量** 136.11

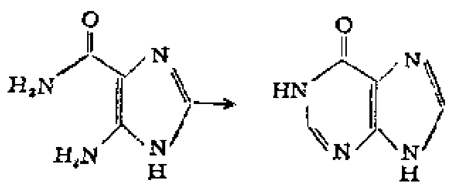
理化性质 针状结晶。水中溶解度为0.07g/100m(19℃)，1.4g/100mL(100℃)，溶于稀酸和碱。0.5mol/L硫酸或10mol/L氢氧化钠中，100℃1小时后小于5%分解。

理化参数 熔点>350℃(分解)。pK2.0(碱性基团)，8.9，12.1(酸性基团)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\varepsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\varepsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A}{A_{260}}$
0	248	10.8	7.36	215	1.45	0.04	0.00
4～7	249.5	10.7	7.9	221	1.32	0.09	0.01
11	258.5	11.1	11.0	232	0.84	0.12	0.01
14	262.5	11.5	11.3	233	0.71	0.19	0.01

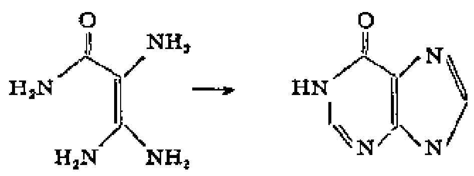
制备方法

一[1]、



于由1g金属钠与25mL乙醇新鲜制备的乙醇钠乙醇溶液中，先后加1g(7.9mmole) 5-氨基-4-咪唑甲酰胺和2.96g(40mmol)原甲酸乙酯，回流3小时，然后，加50mL水，用氢型阳离子交换树脂中和，过滤，滤液浓缩得固体，水中重结晶得0.59g(42%)次黄嘌呤。

二[2]、



2g氨基丙酰胺脒（双盐酸盐）加10mL原甲酸乙酯和20mL二甲基甲酰胺，加热回流3～5分钟（溶液由清变混浊），冷却，过滤，在乙醇中结晶，得1.31g(85%)无色次黄嘌呤。

贮存 室温下贮存

参考文献

〔1〕 Yamazaki, A. et al.: *J. Org. Chem.*, 32, 3258(1967).

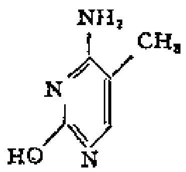
〔2〕 Richter, E. et al.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 82, 3144(1960).

5-甲基胞嘧啶 Ⅱ-4(1)-0006

5-Methylcytosine

别名 2-羟基-4-氨基-5-甲基嘧啶 2-Hydroxy-4-amino-5-methylpyrimidine

结构式



分子式 $C_5H_7N_3O$ **分子量** 125.13

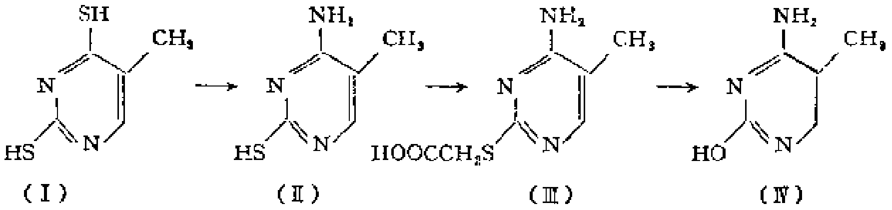
理化性质 含水分子的棱形结晶。亚硝酸脱氨产生胸腺嘧啶。

理化参数 熔点270℃，盐酸盐熔点299～301℃，苦味酸盐熔点290～291℃。pK4.6(碱性基团)，12.4(酸性基团)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\varepsilon_{最大}\times10^3$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1	283	9.8	242	0.40	2.62	2.43
7	273	6.2	252	0.80	1.21	0.54
14	289	8.1	254	0.84	3.64	4.71

制备方法[1] 2.5g 2,4-二巯基-5-甲基嘧啶（Ⅰ）溶于50mL浓氨水，封管100℃加热16小时，冷却，得白色针状结晶，过滤1.5g 2-巯基-4-氨基-5-甲基嘧啶（Ⅱ），母液浓缩又得

0.2g(Ⅰ)总产率为95%，水中重结晶。熔点273～274℃(分解)。将1g(Ⅱ)加0.67g 2-氯乙酸水溶液水中，回流30分钟，冷却过滤，于滤液加2.5mol/L氢氧化钠，用乙酸调pH6，得



1.1g(79%)无色针状结晶2-羧甲基硫代-4-氨基-5-甲基嘧啶(Ⅲ)，于乙醇-乙醚(1:1)中重结晶。熔点193～194℃。将1g(Ⅲ)加5mL浓盐酸，回流2小时，用氨水中和，过滤得0.6g(67%)三水和二盐酸的5-甲基胞嘧啶溶于2.5mol/L盐酸，加丙酮沉淀，重复沉淀一次，得无色小片状结晶为5-甲基胞嘧啶(Ⅳ)盐酸盐。

贮存 室温。

参考文献

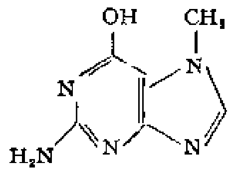
〔1〕 Hitchings, G. H. et al.: *J. Biol. Chem.*, 177, 357(1949).

7-甲基鸟嘌呤

7-Methylguanine　　Ⅱ-4(1)-0007

别名 2-氨基-6-羟基-7-甲基嘌呤　2-Amino-6-hydroxy-7-methylpurine

结构式



分子式 $C_6H_7N_5O$　　**分子量** 165.16

理化参数 熔点 >390℃(分解)。pK～0,3.5(碱性基团);9.9(酸性基团)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\varepsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	A_{250}/A_{260}	A_{280}/A_{260}	A_{290}/A_{260}
1	250 271	10.8 7.6	227 267	1.30	0.79	0.52
7	248 283	5.9 7.4	230 260	1.46	1.87	1.73
12	280	7.3	257	1.13	1.89	1.47

制备方法[1]

一、1g 7-甲基鸟苷(Ⅱ-4(1)-0047)的25mL水溶液于蒸汽浴中加热1小时，冷至5～10℃，放10小时，过滤，用冷水洗，干燥得7-甲基鸟嘌呤(滤液为D-核糖)。

二、1g 7-甲基鸟苷(Ⅱ-4(1)-0047)加进含0.5mL浓硫酸的10mL水中，蒸汽浴中加热2小时，冷至室温，放置24小时，过滤，用冷水洗，干燥得7-甲基鸟嘌呤硫酸盐。

三、将7-甲基鸟苷(Ⅱ-4(1)-0047)浮悬于50mL甲醇中，蒸汽浴加热1小时，过滤，冷水洗，干燥得7-甲基鸟嘌呤。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

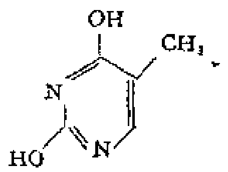
〔1〕 Jones, J. W. and Robins, R. K.; *J. Amer. Chem. Soc.*, 88, 193(1963).

胸 腺 嘧 啶 Ⅱ-4(1)-0008

Thymine

别名 5-甲基尿嘧啶 5-Methyluracil

结构式



分子式 $C_5H_6N_2O_2$ **分子量** 126.11

理化性质 片状或针状结晶。水中溶解度0.4g/100mL(25℃)，溶于热水；微溶于乙醇，极难溶于乙醚。

理化参数 熔点310℃(分解)。p*K*9.9，>13(酸性基团)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\varepsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\varepsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1,7	207 264.5	9.5 7.9	7.4	233	0.67	0.53	0.09
12	291	5.4	3.7	244	0.65	1.31	1.41

制备方法[1] 6g(0.10mol)脲小量分批加进25mL发烟硫酸（15% SO_3）中，置冰盐浴冷却，室温搅拌至脲全部溶解，倒入7.4g(0.05mol)β-甲基羟基丁二酸（从β-甲基羟基丁二酸二乙酯用盐酸水解制备）中，溶解后于蒸汽浴中加热1小时，冷却，倒入75mL水中，冷至0℃，过滤，水洗，产物于沸水中重结晶，干燥得3.15g产物。

贮存 室温。

参 考 文 献

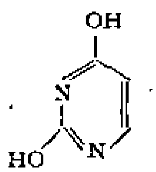
〔1〕 Scherp, H. W.; *J. Amer. Chem. Soc.*, 68, 912(1946).

尿 嘧 啶 Ⅱ-4(1)-0009

Uracil

别名 2,4-二羟基嘧啶 2,4-Dihydroxypyrimidine

结构式



分子式 $C_4H_4N_2O_2$ **分子量** 112.09

理化性质 白色粉末或针状结晶簇。水中溶解度为0.36g/100mL(25℃)，溶于碱；极难溶于乙醇，不溶于乙醚。

理化参数 熔点315℃（分解）。pK9.5，>13（酸性基团）紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\varepsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\varepsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	A_{250}/A_{260}	A_{280}/A_{260}	A_{290}/A_{260}
2.7	259.5	8.2	8.2	227	0.84	0.17	0.01
12	284	6.2	4.1	241	0.71	1.40	1.27

制备方法[1] 40mL发烟硫酸（15%SO_3）盛于2L圆底烧瓶中，冷至0℃，搅拌下缓慢加入100g结晶脲，温度保持10℃以下，加入100g粉末状的羟基丁二酸，将烧瓶置蒸汽浴加热1小时（放出大量二氧化碳和二氧化硫），冷却，倒入1200mL水中，得尿嘧啶粗品，过滤、水洗，沸水中重结晶（加活性炭处理），得雪花状白色针状结晶，干燥后为4246g产率50～55%。

贮存 室温下贮存。

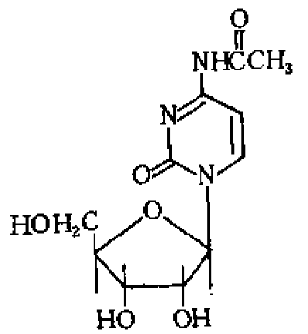
参 考 文 献

〔1〕 Dividson, D. and Baudisch, O.: *J. Amer. Chem. Soc.* 48, 2379 (1926).

N^4-乙酰胞苷 Ⅲ-4(1)-0010

N⁴-Acetylcytidine

结构式



分子式 $C_{11}H_{15}N_3O_6$ **分子量** 285.25

理化参数 熔点208～209℃。$[\alpha]_D^{23}+60.1°$($C=1.0$，水)。pK<1.5(碱性基团)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\varepsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	A_{250}/A_{260}	A_{280}/A_{260}	A_{290}/A_{260}
1	241 308	12.4 13.8	264	1.7	1.4	2.4
7	247 297	15.2 8.7	226 271	1.80	0.61	0.95
13	302	14.0	241	0.72	1.57	1.84

制备方法[1] 于12.15g(50mmol) 胞苷的1.1L吡啶溶液，加5mL乙酸酐，完全溶解后，回流2小时，减压浓缩得白色固体，乙醇中重结晶得9.5g(66.6%)N^4-乙酰胞苷。

贮存 0℃以下保存。

参 考 文 献

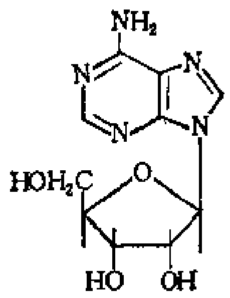
〔1〕 Sasaki, T. and Mizuro, Y.: *Chem. Pharm. Bull.*, 15,894 (1967).

腺 苷 Ⅱ-4(1)-0011

Adenosine

别名 腺嘌呤核苷 Adenine riboside; 9-β-D-呋喃核苷腺嘌呤 9-β-D-Ribofuranosido-adenine

结构式



分子式 $C_{10}H_{13}N_5O_4$ **分子量** 267.24

理化性质 含 $1^1/_2$ 分子水的无色针状结晶，于100℃真空处理失去结晶水。溶于水；极难溶于乙醇。易为稀无机酸水解得到腺嘌呤和D-核糖。亚硝酸脱氨产生肌苷。

理化参数 熔点234～235℃。$[\alpha]_D^{25}-61°$(C=1.0，水)。pK3.5 (碱性基团)，12.5(酸性基团)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\varepsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\varepsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1～2	257	14.6	14.3	230	0.84	0.22	0.03
6	260	14.9	14.9	227	0.78	0.14	0.00
11	259	15.4		227	0.79	0.15	0.00

制备方法[1] 300 mg 6-巯基-9-β-D-呋喃核糖基嘌呤溶于 2.5 mL 0.4 mol/L 氢氧化钠，室温分批加入0.073mL碘甲烷，振荡10分钟，再加0.4mL 0.4mol/L氢氧化钠和0.073mL碘甲烷，室温放置 2 小时，产生白色针状结晶，冰箱过夜，收集固体，干燥后用2mL无水乙醇回流数分钟，冷却过滤得257mg (74%) 6-甲硫基-9-β-D-呋喃核糖基嘌呤，熔点163～164℃。0.5g 上述产物加 15mL 0℃饱和的甲醇-氨，封管，146～148℃ 7 小时后，减压浓缩，于乙醇中结晶，得0.31g (69%) 腺苷。

贮存 于0～5℃下保存。

参 考 文 献

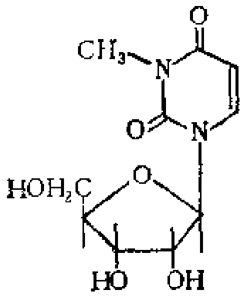
〔1〕 Fox, J. J. et al.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 80, 1669 (1958).

3-甲基尿苷

Ⅱ-4(1)-0012

3-Methyluridine

结构式



分子式 $C_{10}H_{14}N_2O_6$ **分子量** 258.23

理化参数 熔点 122～123℃。$[\alpha]_D^{25}$＋20.1（水）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\varepsilon_{最大}\times10^3$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
2	262	9.2	232	0.74	0.35	0.04
7	262	9.5	232	0.74	0.35	0.04
12	263	9.4	232	0.70	0.46	0.10

制备方法[1,2]

一、将7.0g(0.029mol) 干燥的尿苷溶于100mL新鲜重蒸乙酸酐，室温过夜，减压浓缩至浆状物，加晶体固化，用无水乙醇洗，沸乙醇中重结晶得9.5g(90%)三乙酰尿苷(Ⅰ)。19g(0.051mol)Ⅰ溶于少量热的二氯甲烷，冷至0℃缓慢振荡加5.3g重氮甲烷的乙醚溶液，干燥条件下密封过夜，减压浓缩，加50mL无水甲醇，减压抽干，溶于含5%盐酸的无水甲醇中，饱和回流10分钟，放置过夜，减压浓缩，加甲醇抽去盐酸，溶于少量冷水，通过5g阴离子交换树脂，洗涤液用活性炭脱色，冻干，溶于甲醇-乙酸乙酯中，加乙醚至混浊，得9.8g(74%)白色针状结晶。

二、0.15g尿苷的200mL水溶液，加75mL重氮甲烷的醚溶液，振荡，水相冻干得0.16g油状物，于甲醇-乙酸乙酯-乙醚中结晶得3-甲基尿苷，熔点115～116℃。此方法简便，但产率低。

贮存 室温下贮存。

参 考 文 献

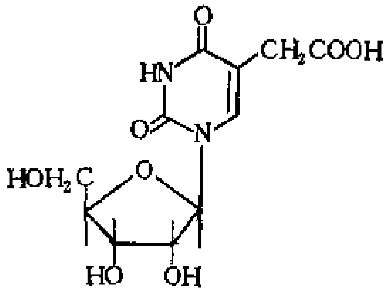
〔1〕 Visser, D. W. et al.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 75, 2017 (1953).
〔2〕 Hains, J. A. et al.: *J. Chem. Soc.*, 1406 (1964).

5-羧甲基尿苷

5-Carboxymethyluridine

别名 尿苷-5-乙酸 Uridine-5-acetic acid

结构式

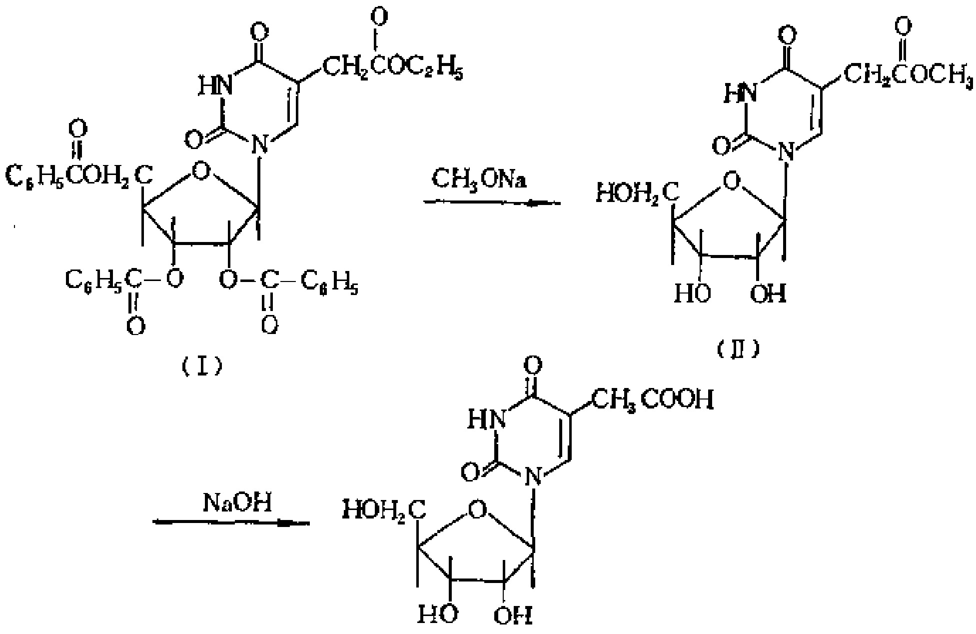


分子式 $C_{11}H_{14}N_2O_8$ **分子量** 302.24

理化参数 熔点 242～244 ℃。$[\alpha]_D^{25}$ − 24.3°(1 mol/L 氢氧化钠)。p*K* 4.2，9.8（酸性基团）。紫外吸收数据

pH	λ最大 nm	ε最大×10⁻³	λ最小 nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1	265	9.7	234	0.69	0.64	0.19
7	266.5		236	0.68	0.75	0.27
13	266.5	7.1	245	0.80	0.71	0.25

制备方法[1]



(Ⅰ) (Ⅱ) (Ⅲ)

2.12g(3.33mmol)1-(2′,3′,5′-*O*-三苯甲酰基-β-D-呋喃核糖基）-5-乙氧羰甲基尿嘧啶（Ⅰ)溶于含115mg金属钠的60mL无水甲醇中，回流6小时，室温下过夜，用氢型阳离子交换树脂中和，过滤，用甲醇充分洗树脂，滤液浓缩至干，再以石油醚、乙醚洗数次，干燥，得1.01g（96%）粗产品。通过4×26cm硅胶柱，用丙酮洗，收集5-甲氧羰甲基尿苷（Ⅰ)组分，蒸馏除去溶剂，以乙醚研磨得860mg，甲醇中重结晶，熔点163～165℃。将316mg(1mmol)（Ⅱ）加6mL含1.0mmol氢氧化钠水溶液，蒸汽浴上加热水解4小时，用氢型阳离子交换树脂中和，水洗滤渣，合并滤液，浓缩，再过滤浓缩，调至pH为3，冷却，收集固体，冷水洗，干燥得220mg(75%)5-羧甲基尿苷(Ⅱ)。

贮存　在0℃以下贮存。

参 考 文 献

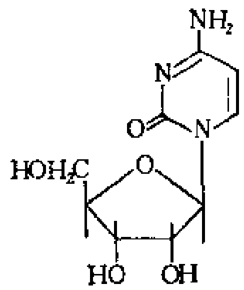
〔1〕 Fissekis, J. D. and Sweet, F.: *Biochemistry*, 9,3136 (1970).

胞　苷　　Ⅰ-4(1)-0014

Cytidine

别名　胞嘧啶核苷 Cytosine riboside，1-β-D-呋喃核苷胞嘧啶 1-β-D-Ribofuranosidocytosine。

结构式



分子式　$C_9H_{13}N_3O_5$　　**分子量**　243.22

理化性质　自90%乙醇中得针状结晶。溶于水；微溶于乙醇。

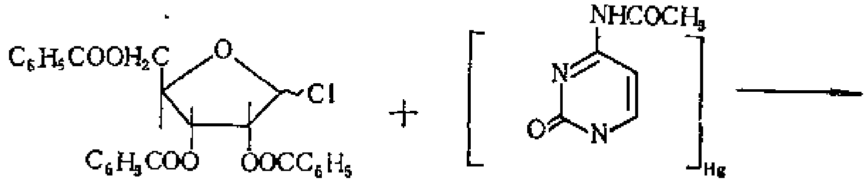
理化参数　硫酸盐熔点224～225℃（分解）。$[\alpha]_D^{18}+34.2°$（$C=2.0$，水)。pK4.15（碱性基团)，12.3（酸性基团)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\varepsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\varepsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1—2	280	13.4	6.4	241	0.45	2.10	1.55
7	229.5 271	8.3 9.1	7.55	226 250	0.86	0.93	0.28
13	272.5	9.15		251	0.87	1.02	0.38

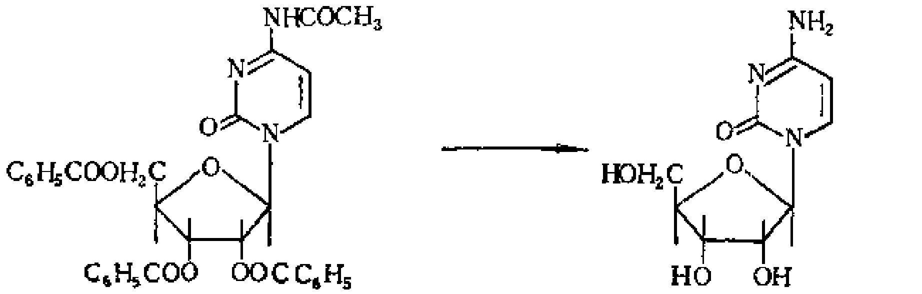
制备方法

一[1]、0.01mol 1-*O*-乙酰-2,3,5-*O*-三苯甲酰-D-核糖加进150mL预先用氯化氢饱和的

无水乙醚中，于5～10℃下保存4天，减压除去溶剂，于浆状物加无水苯反复浓缩3次，得2,3,5-*O*-三苯甲酰-D-核糖基氯（Ⅰ），（Ⅰ）的苯溶液加进恒沸干燥和搅拌的0.05mol *N*-乙酰胞嘧啶汞（Ⅱ）的热二甲苯中，数分钟后反应液均匀，回流25分钟，冷却，用石油醚处理，沉淀溶于氯仿，用30%碘化钾、水洗，干燥后抽干，浆状物溶于小量热的乙酸乙酯中，加石油醚至混浊，冷却放置，析出结晶，加较大量石油醚使结晶完全，过滤，得1.5g（51%）1-(2,3,5-*O*-三苯甲酰-β-D-呋喃核糖基）-4-乙酰胺-2(1H)嘧啶酮（Ⅲ）。将3g（Ⅲ）加60



（Ⅰ）　　　　（Ⅱ）



（Ⅲ）　　　　（Ⅳ）

mL 0℃饱和的乙醇氨，封管100℃过夜，冷却，减压浓缩得浆状物，加水反复抽去苯甲酸乙酯，溶于水，用氯仿抽提除去苯甲酰胺，水相加助滤剂过滤，浓缩至浆状，溶于95%热乙醇，加4滴浓硫酸，再加无水乙醇至混浊，放置过滤得1.07g（73%）胞苷（Ⅳ）硫酸盐。

二[2]、80.5g(0.33mol) 尿苷溶于2300mL无水吡啶，搅拌下滴加128mL(1.10mol)苯甲酰氯，在55～60℃下保温48小时，浓缩减去约1500mL吡啶，过滤，滤液加进激烈搅拌的冰水中，搅拌1小时，部分油状物固化，过滤，留下油状物重新用冰水处理，共得153g固体，将最后的油状物用氯仿溶解，水洗，硫酸钠干燥，抽干得残余物，将固体和残余物合并，于1L热苯中重结晶，冷却，过滤，干燥得167g（90%）1-(2,3,5-*O*-三苯甲酰-β-D-呋喃核糖基）尿嘧啶。将5.56g上述产物加8.88g五硫化二磷的150mL吡啶，搅拌回流5小时，浓缩除去约1/3吡啶，倒入搅拌的水中，析出油状物溶于氯仿，过滤，水洗氯仿相，硫酸钠干燥，过滤，将滤液抽干，固体溶于150mL热乙醇中，室温放置，得4.96g（87%）黄色棱形结晶1-(2,3,5-*O*-三苯甲酰-β-D-呋喃核糖基）-4-巯基尿嘧啶，熔点128～130℃。将3.00g(0.0052mol) 上述产物用80mL乙醇-氨100℃处理18小时，抽干，加水反复抽去苯甲酸乙酯，水相用氯仿抽提3次除去苯甲酰胺，用活性炭处理，过滤，将滤液抽干，固体溶于热乙醇中，滴加浓硫酸，得白色沉淀，冷却过滤得胞苷硫酸盐1.35g产率89%。

贮存　室温下保存。

参 考 文 献

〔1〕 Fox, J. J. et al.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 79, 5060 (1957).
〔2〕 Fox, J. J. et al.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 81, 178 (1959).

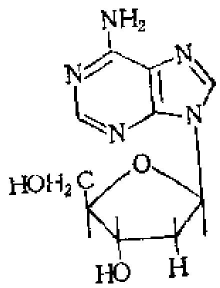
脱 氧 腺 苷

Ⅱ-4(1)-0015

Deoxyadenosine

别名 腺嘌呤脱氧核苷Adenine deoxyriboside；9-β-D-2′-呋喃脱氧核苷腺嘌呤 9-β-D-2′-Deoxyfuranosido adenine

结构式



分子式 $C_{10}H_{13}N_5O_3$ **分子量** 251.24

理化性质 含水的白色结晶，80℃真空处理失去结晶水。溶于水。易为稀酸水解。

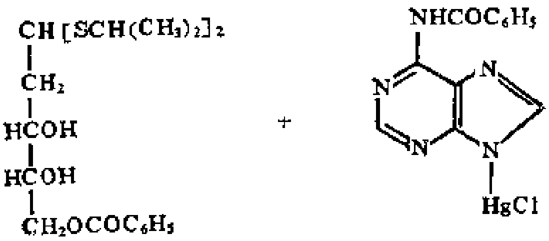
理化参数 熔点187～189℃（168～169℃软化）。$[\alpha]_D^{25}$ −26.0°(C=1.0，水)。pK3.8（碱性基团）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\varepsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
2	258	14.5	228	0.83	0.24	
7	260	15.2	225	0.79	0.15	
13	261	14.9				

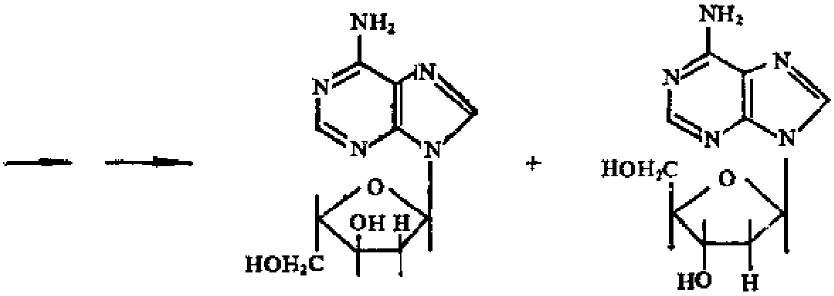
制备方法[1]

1g 5-O-苯甲酰-2-脱氧-D-核糖二异基二巯基缩醛(Ⅰ)溶于50mL乙腈，加5.07g氯汞-6-苯甲酰胺基嘌呤(Ⅱ)，搅拌回流4小时，减压浓缩，用二氯甲烷反复浓缩数次，固体溶于20mL甲醇中，加6mL 1mol/L甲醇钡，回流4小时，用二氧化碳中和，抽干，加20mL水，滤液抽干，用甲醇抽提3次，抽干，得0.70g连接产物9-(2-脱氧-α-D-呋喃核糖基)嘌呤(Ⅲ)和2′-脱氧腺苷（Ⅳ,9-(2-脱氧-β-D-呋喃核糖基)嘌呤)。将上述异构体混合物溶于20mL甲醇和20mL水，通过700mg粉状纤维素柱层析分离，用异丙醚-乙醇-水(16:4.5:1，v/v/v)洗脱，收集2′-脱氧腺苷组分，抽干，用3×100mL热甲醇抽提，合并抽提液，并抽干，得150mg，将固体溶于5mL水，用活性炭处理，过滤浓缩，在5℃下过夜，得42.4mg(6.3%)产物。

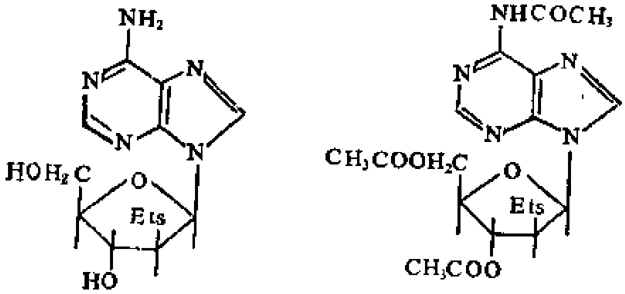
从6-氨基-9-〔2′-脱氧-2′-(乙硫基)-β-D-呋喃阿拉伯糖基〕嘌呤(Ⅴ)或6-乙酰胺-9-



(Ⅰ)　　　　(Ⅱ)



(Ⅲ)　　　　(Ⅳ)



(Ⅴ)　　　　(Ⅵ)

(Ets = C_2H_5S-)

〔3′,5′,-O-二乙酰基-2′-脱氧-2′-（乙硫基）-β-D-呋喃阿拉伯糖基〕嘌呤（Ⅵ）也可制得2′-脱氧腺苷[2]。

用小肠粘膜酶解DNA经柱层析分离制备脱氧腺苷方法见Ⅱ-4(1)-0017脱氧鸟苷制备法[3]

贮存 室温下贮存。

参 考 文 献

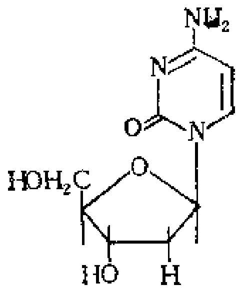
〔1〕 Pederson, C. and Fletcher, Jr. H. G. : *J. Amer. Chem. Soc.*, 82, 5210 (1960).
〔2〕 Anderson, C. D. et al. : *J. Amer. Chem. Soc.*, 81, 3967 (1959).
〔3〕 Anderson, W. et al. : *J. Chem. Soc.*, 2721 (1952).

脱氧胞苷　Ⅱ-4(1)-0016

Deoxycytidine

别名　胞嘧啶脱氧核苷 Cytosine deoxyriboside, 1-β-D-2'-呋喃脱氧核苷胞嘧啶 1-β-D-2'-Deoxyribo furanosidocytidine。

结构式



分子式　$C_9H_{13}N_3O_4$　**分子量**　227.22

理化性质　自甲醇/乙醚中得到棱晶。溶于水。亚硝酸脱氨产生脱氧尿苷。苦味酸盐为针状结晶（熔点192～198℃分解）。

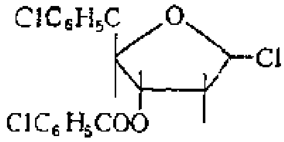
理化参数　熔点200～201℃，盐酸盐熔点161～164℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}+82.4°$（C=1.31，1mol/氢氧化钠）。pK4.3(碱性基团)，>13（酸性基团)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\varepsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\varepsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1—2	280	13.2	6.15	241	0.42	2.14	1.61
7	271	9.0	7.55	250	0.83	0.97	0.31
11	271	9.0		250	0.83	0.97	0.31

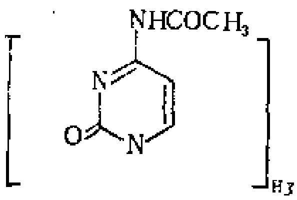
制备方法

一[1]、15g(0.034mol)3',5'-O-二苯甲酰-2'-脱氧尿苷和38.3g(0.172mol)五硫化磷溶于约1L吡啶中，搅拌下滴加1mL水，回流6小时，室温放置过夜，从半固体反应液中倒出吡啶，减压浓缩液体，将固体和浓缩液一并缓慢加入激烈搅拌的1L水中，继续搅1小时，得粉状物，过滤，溶于二氯甲烷，滤去不溶物，水洗，有机相用硫酸钠干燥，抽干，加乙醇浓缩得黄色油状物，于500mL乙醇中重结晶，干燥得11.5g(74%)黄色长针状结晶1-(3',5'-O-二苯甲酰-2'-脱氧-β-D-核糖基)-4-硫代尿嘧啶，熔点137～139℃，$[\alpha]_D^{25}-17°$(C=0.6，二氯甲烷)。1.5g上述产物（0.033mol）加60mL0℃饱和的甲醇氨，封管100℃ 12小时，冷却过滤，浓缩，加水浓缩二次除去苯甲酸乙酯，残渣用二氯甲烷抽提数次除去苯甲酰胺，助滤剂处理后抽干，将残渣直接转变为苦味酸盐。

二[2]、0.005mol 3,5-O-二（对氯苯甲酰)-2-脱氧-D-核糖基氯(Ⅰ，从2-脱氧核糖制备）一次全部加进激烈搅拌的0.0025mol N-乙酰胞嘧啶汞(Ⅱ)的40mL二甲苯中，冰浴中冷却，过滤，于滤液加300mL石油醚，收集沉淀，溶于氯仿，用30%碘化钾溶液洗，水洗，硫酸钠干燥，过滤后浓缩得结晶，溶于15mL乙醇，加2mL乙酸乙酯，冷却得0.6g产物，母液



（Ⅰ）



（Ⅱ）

再回收0.2g共0.8g α和β异构体混合物——1〔3,5-O-二（对氯苯甲酰)-2-脱氧-α，β-D-核糖基〕-4-乙酰氨-2(1H)-嘧啶酮。上述产物溶于20mL热乙醇，冷却，得0.3g α-异构体，针状结晶。熔点200～201℃。将母液浓缩至10mL，冷却得0.3g β-异构体即脱氧胞苷衍生物，从母液又可得0.3g β-异构体，合并，于10mL热乙醇重结晶，$[\alpha]_D^{25}-19°$(C=0.9氯仿)。300mg β-异构体用0℃饱和的乙醇氨脱酰基，于甲醇-乙醚中重结晶得90mg脱氧胞苷。

3[3] 用小肠粘膜酶解DNA经柱层析分离制备（参见Ⅱ-4(1)-0017脱氧鸟苷制备方法)。

贮存 室温下贮存

参 考 文 献

〔1〕 Wempen, I. et al. :*J. Amer. Chem. Soc.*, 83, 4764 (1961).

〔2〕 Fox, J. J. et al. :*J. Amer. Chem. Soc.*, 83, 4066 (1961).

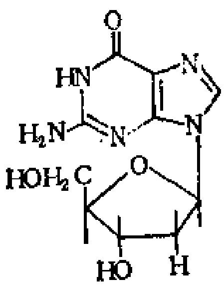
〔3〕 Anderson, W. et al. :*J. Chem. Soc.* 2721 (1952).

脱 氧 鸟 苷 　　Ⅱ-4(1)-0017

Deoxyguanosine

别名 鸟嘌呤脱氧核苷 Guanine deoxyriboside, 9-β-D-2′-呋喃脱氧核苷鸟嘌呤 9-β-D-2′-Deoxyribo furanosidoguanine

结构式



分子式 $C_{10}H_{13}N_5O_4$ 　　**分子量** 267.24

理化性质 含水的针状结晶。于133.3Pa 135℃处理20小时失去结晶水。溶于水。易被稀无机酸水解。

理化参数 熔点250℃。$[\alpha]_D^{19}-47.7°$ (C=0.86, mol/1L 氢氧化钠)，$[\alpha]_D^{23.5}-30.2°$(C=

0.2，水)。pH2.5（碱性基团)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\varepsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\varepsilon_{280}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1	255	12.1	11.3	232	1.00	0.69	0.47
(水)	254	13.0		223	1.16	0.68	0.27
12	260	9.2		230	0.87	0.61	0.09

制备方法[1]　180g鱼精DNA溶于1400mL温水，加5.4g含7分子水的硫酸镁和脱氧核糖核酸酶（DNase，加入量与DNA的纯度和DNase活性大小有关），调pH为6.5，于37℃保温二天；加牛肠磷酸酯酶于37℃保温1天，调pH9，再加牛肠磷酸酯酶保温1天。通过3.3×32cm的甲酸型强阴离子交换树脂（250～500目）分离，流速270mL/h，0.01mol/L甲酸铵pH9.8洗下脱氧胞苷和脱氧胞苷，0.1mol/L甲酸铵，pH7.4先洗下脱氧胸腺苷（4.2g），然后洗脱脱氧鸟苷，洗脱液浓缩，放入冰箱，得1.9g，从母液中又可回收0.38g，共得2.28g脱氧鸟苷。

贮存　室温下保存

参 考 文 献

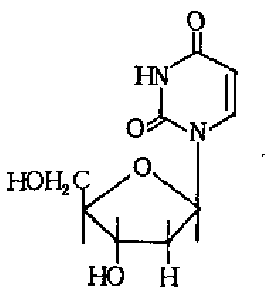
〔1〕 Anderson, W. et al. : *J. Chem. Soc.*, 2721 (1952).

脱 氧 尿 苷　　Ⅱ-4(1)-0018

Deoxyuridine

别名　尿嘧啶脱氧核苷　Uracil deoxyriboside；1-β-D-2′-呋喃脱氧核苷尿嘧啶　1-β-D-2′-Deoxyribo furanosidouracil

结构式



分子式　$C_9H_{12}N_2O_5$　　**分子量**　228.20

理化性质　针状结晶。溶于甲醇、水。

理化参数　熔点163℃。$[\alpha]_D^{22}+50°$($C=1.1$，1mol/L氢氧化钠)。pK 9.3，>13（酸性基团)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\varepsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\varepsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$
1～7	262	10.2	10.1	231	0.74	0.32
11～12	262	7.63	7.55	242	0.81	0.27

制备方法[1]　5 mg 脱氧胞苷（Ⅱ-5(1)-0016）溶于 1 mL 20% 乙酸，用稍过量的亚硝酸钠处理，室温数小时后，中和，减压抽去溶剂，用乙醇抽提，浓缩得脱氧尿苷。

贮存　室温下保存。

参 考 文 献

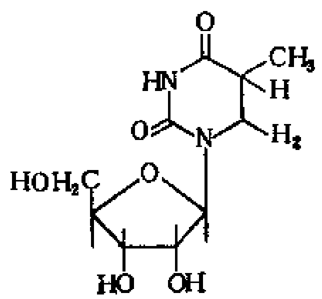
〔1〕 Fox, J. J. and Shugar, D.: *Biochim. et Biophys. Acta*, 9, 369(1952).

5,6-二氢-5-甲基尿苷　　Ⅱ-4(1)-0019

5,6-Dihydro-5-methyluridine

别名　5,6-二氢核糖基胸苷　5,6-Dihydrovibosyl-thymidine

结构式



分子式　$C_{10}H_{16}N_2O_6$　　**分子量**　260.25

制备方法[1,2]　参照通用还原法，以Rh/Al_2O_3为催化剂通氢气还原，在 pH2～5 水溶液中进行，1.5小时后停止吸收氢气，过滤，将滤液抽干，在乙醇水溶液中重结晶。

贮存　在0℃以下保存。

参 考 文 献

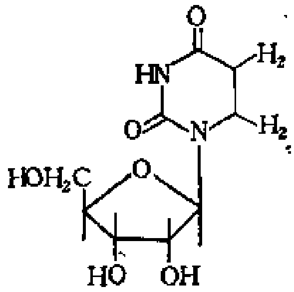
〔1〕 Cohn, W. E. and Doherty, D. G.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 78, 2863.(1956).
〔2〕 Green, M. and Cohen, S. S.: *J. Biol. Chem.*, 225, 397(1957).

5,6-二氢尿苷　　Ⅱ-4(1)-0020

5,6-Dihydrouridine

别名　二氢尿苷　Dihydrouridine

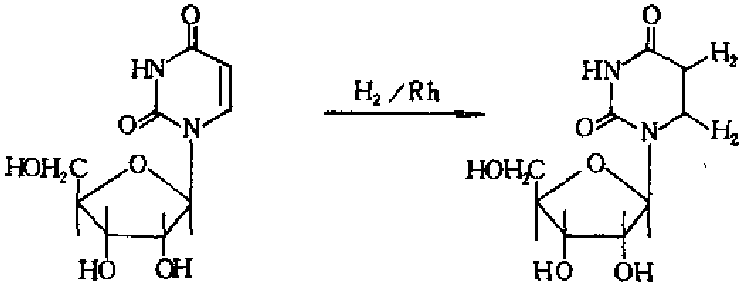
结构式



分子式 $C_9H_{14}N_2O_6$ **分子量** 246.22

理化参数 熔点106～108℃，$[\alpha]_D^{25}-36.8°$（$C=2.1$，水）。紫外吸收数据：水中，$\lambda_{最大}$ 208nm，$\epsilon_{最大}6.6\times10^3$；pH13，$\lambda_{最大}$235nm，$\epsilon_{最大}10.1\times10^3$。

制备方法[1,2]



（Ⅰ） （Ⅱ）

一、H_2催化还原[1] 2.44g尿苷(Ⅰ)溶于75mL水中，加0.5g 5%铑(Rh)/氧化铝，40psi氢气还原24小时，加助滤剂过滤，滤液浓缩至干，于40mL甲醇中结晶，得1.87g(Ⅱ)。

二、光还原[2] 380mg(Ⅰ)的400mL水溶液，加120mg硼氢化钠，连续通氮蒸气下用被1cm宽度甲醇滤色的低压汞灯于50～56℃照射45分钟，加氢型阳树脂剧烈搅拌调至pH 3，过滤并酸化滤液，水洗树脂，合并洗液，冻干，溶于50mL甲醇，蒸发至干除去硼酸甲酯，反复3次，得无色油状物，溶于少量正丁醇-水（86:14）中，用硅胶柱层析分离纯化，得178mg(Ⅱ)和132mg未反应的原料(Ⅰ)。

贮存 0℃以下贮存。

参 考 文 献

〔1〕 Hanze, A. R.; *J. Amer. Chem. Soc.*, 89, 6720(1967).

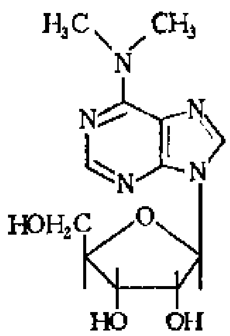
〔2〕 Cerutti, P. et al.; *J. Amer. Chem. Soc.*, 90, 771(1968).

N^6, N^6-二甲基腺苷 Ⅱ-4(1)-0021

N^6, N^6-Dimethyladenosine

别名 6-二甲氨基-9-β-D-呋喃核糖基嘌呤 6-Dimethylamino-9-β-D-ribofuranosylpurine

结构式



分子式 $C_{12}H_{17}N_5O_4$ **分子量** 295.30

理化参数 熔点183～184℃。$[\alpha]_D^{25}-62.6°$($C=2.6$，水)。pK4.5（碱性基团)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\varepsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1	268	18.4	234	0.60	0.94	0.42
7	275	18.8	236	0.46	1.54	0.96
13	276	19.2	237	0.37	1.68	1.01

制备方法[1] 2.5g 6-氯-9-β-D-呋喃核糖基嘌呤（6-氯嘌呤核苷）于25℃加入含2.5g无水二甲胺的50mL丙酮和50mL甲醇中，室温搅拌8小时，在10～15℃下放置12小时，过滤，乙醚洗，产物溶于400mL沸丙酮，用活性炭处理后，过滤，于10～15℃下冷却24小时，过滤，用乙醚洗，干燥得1.5g N^6, N^6-二甲基腺苷。

贮存 0℃以下保存。

参 考 文 献

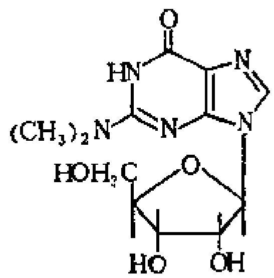
〔1〕 Townsend, L. B. et al.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 86, 5320(1964).

N^2, N^2-二甲基鸟苷 Ⅱ-4(1)-0022

N^2, N^2-Dimethylguanosine

别名 2-二甲氨基-9-β-D-呋喃核糖基-6-酮基嘌呤 2-Dimethylamino-9-β-D-ribofuranosylpurin-6-one

结构式



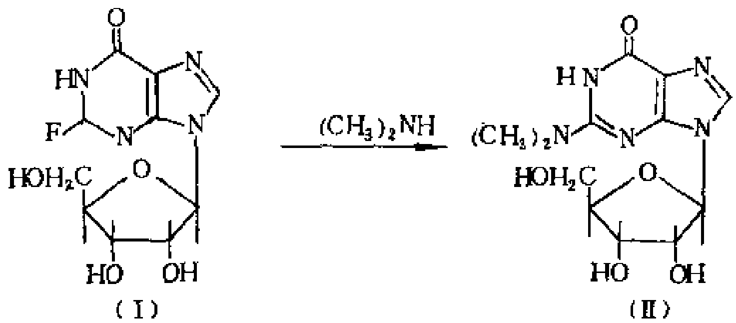
分子式 $C_{12}H_{17}N_5O_5$ **分子量** 311.30

理化参数 熔点242℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}$ -35.6°（C=1.1，二甲亚砜/乙醇(1:1)）。pK 2.5（碱性基团）；9.7（酸性基团）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\varepsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1	265	17.7	236	0.63	0.56	0.48
7	260	18.9	228	0.78	0.57	0.50
13	263	14.3	242	0.86	0.78	0.65

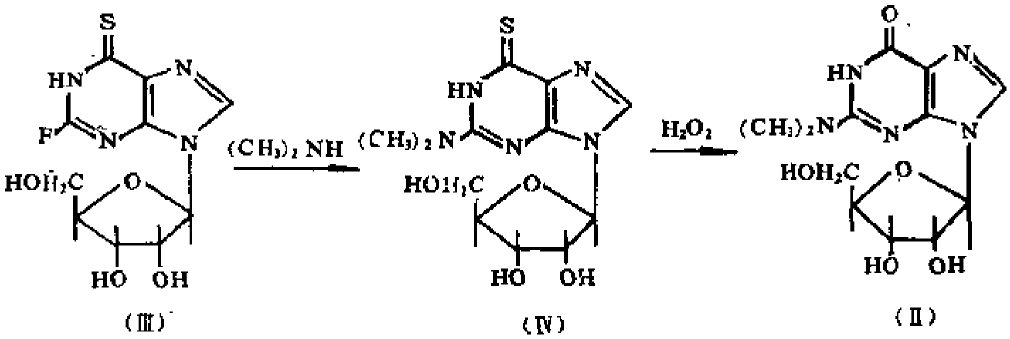
制备方法

一、从2-氟肌苷制备[1]



于30mL无水乙醇和40mL无水二甲胺中加250mg(0.87mol)2-氟肌苷（Ⅰ），回流30分钟，减压抽干。溶于5mL热水（含5滴浓氨水），煮沸，活性炭处理，加助滤剂过滤，少量热水洗2次，滤液用25%甲酸调pH 6，冷却过夜，过滤，得150mg(55%）无色针状结晶。

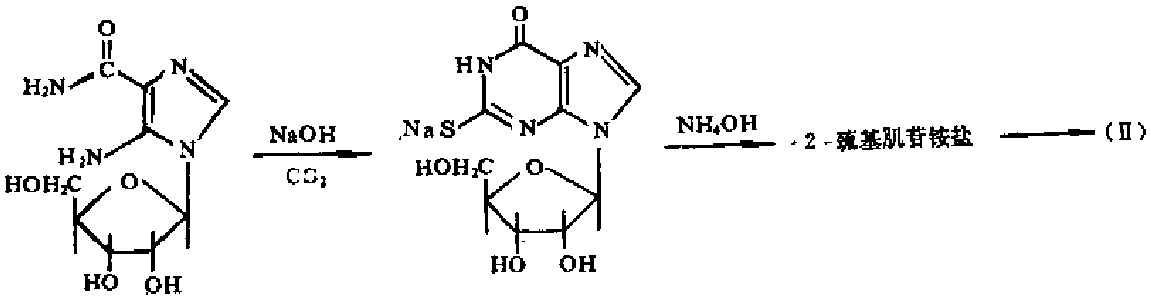
二、从2-氟-6-硫代嘌呤核苷制备[1]



2.5g(0.008mol)2-氟-9-β-D-呋喃核糖基嘌呤-6-硫酮（2-氟-6-硫代嘌呤核苷，Ⅲ）溶于40mL 50%二甲胺乙醇溶液，室温放置1小时，减压蒸馏，加25mL水，用25%甲酸中和得油状物，倒去水相，减压将油状物抽成泡沫状，加25mL乙醇研磨得1.9g(70%)2-二甲胺-9-β-D-呋喃核糖基嘌呤-6-硫酮（2-二甲胺-6-硫代嘌呤核苷，Ⅳ）粗产物，可在水中重结晶。将500mg(1.5mmol)Ⅳ溶于10mL 28%氢氧化铵，滴加20mL 30%过氧化氢（在水浴

中保持25℃)，室温搅拌24小时，加助滤剂过滤，滤液减压抽干，用乙醇研磨，过滤得产物(Ⅰ)。

三、2-巯基肌苷制备[2]



(Ⅴ)　　　　(Ⅵ)

于7.76g(194mmol)氢氧化钠的70mL甲醇中加入温热的10g(38.8mmol)5-氨基1-β-D-呋喃核糖基-4-咪唑甲酰胺(Ⅴ)，随后加14.7g(194mmol)二硫化碳，于油浴高压加热(180℃ 3小时)，冷至室温，过滤，用少量冷甲醇洗沉淀，活性炭处理后于水中重结晶，得8.2g (64%) 2-巯基肌苷(Ⅵ)钠盐，熔点186～198℃ (分解)，$[\alpha]_D^{27}$ -48°(C=1，水)。20g上述钠盐，溶于100mL1mol/L氢氧化铵，减压抽干，水中重结晶得无色2-巯基肌苷铵盐11.2g(53%)，熔点183～186℃。10g(31.6mmol)上述铵盐溶于100mL冷水中，搅拌下加入10.4g(94.8mmol)30%过氧化氢和足量30%二甲胺，水中重结晶得5.1g (52%) 无色结晶 N^2,N^2-二甲基鸟苷(Ⅰ)。

参考文献

[1] Gerster, J. F. and Robins, R. K., : *J. Org. Chem.*, 31, 3258(1966).

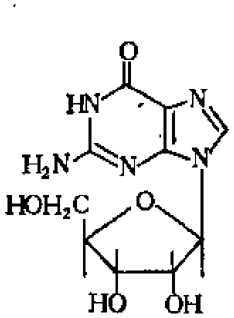
[2] Yamazaki, A., Takewishi, T., Kumashiro, I., : *J. Org. Chem.*, 32, 3032(1967).

鸟　苷　　　　Ⅱ-4(1)-0023

Guanosine

别名　9-β-D-呋喃核苷鸟嘌呤　9-β-D-Ribofuranosidoguanine; Vernine

结构式



分子式　$C_{10}H_{13}N_5O_5$　　　**分子量**　283.24

理化性质　含2分子水的针状结晶。水中溶解度　0.08 g/100 mL (18℃)，3.0 g/100 mL (100℃)；溶于稀无机酸、碱、热水乙酸；不溶于乙醚、乙醇、三氯甲烷、苯。易为稀无机

酸水解得到鸟嘌呤和D-核糖。pH 1时紫外光照射产生蓝色荧光。亚硝酸脱氨得到黄苷。

理化参数 熔点>235℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}-72°$（$C=1.4$，0.1 mol/L 氢氧化钠）。p*K* 1.6（碱性基团）；9.2，12.3（酸性基团）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\varepsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\varepsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
0.7	256	12.3	11.7	228	0.94	0.70	0.50
6	253	13.6	11.7	223	1.15	0.67	0.28
11	258-266	11.3	11.3	230	0.89	0.61	0.13

制备方法[1] 5 g（15.8 m mol）2-巯基肌苷铵盐（由 5-氨基-1-*β*-D-呋喃核糖基-4-咪唑酰胺制备）的30mL水溶液，5℃搅拌下滴加5g(158mmol)30%过氧化氢搅拌 1 小时，加 30mL 乙醇，在冰箱中过夜，过滤，水洗，于50%乙醇溶液结晶2.7 g（47%）肌苷-2-磺酸铵盐。2 g 上述产物加50mL 0℃饱和的乙醇氨，高压釜中120℃加热 2 小时，抽干，水中重结晶得 1.4 g（90%）鸟苷。

贮存 室温下贮存。

参 考 文 献

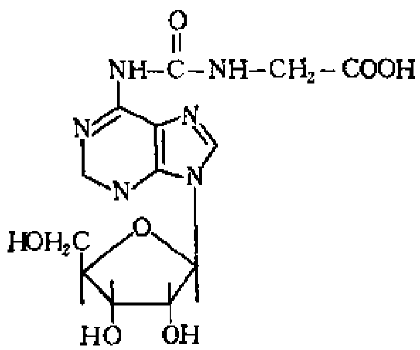
〔1〕 Yamaraki, A. et al.: *J. Org. Chem.*, 32, 3032(1967).

N^6-甘氨酸羰基腺苷 Ⅱ-4(1)-0024

N^6-Glycinocarbonyladenosine

别名 *N*-〔(9-*β*-D-呋喃核糖基嘌呤)-6-氨甲酰〕甘氨酸*N*-〔(9-*β*-D-Ribofuranosylpurin-6-yl)carbamoyl〕glycine

结构式

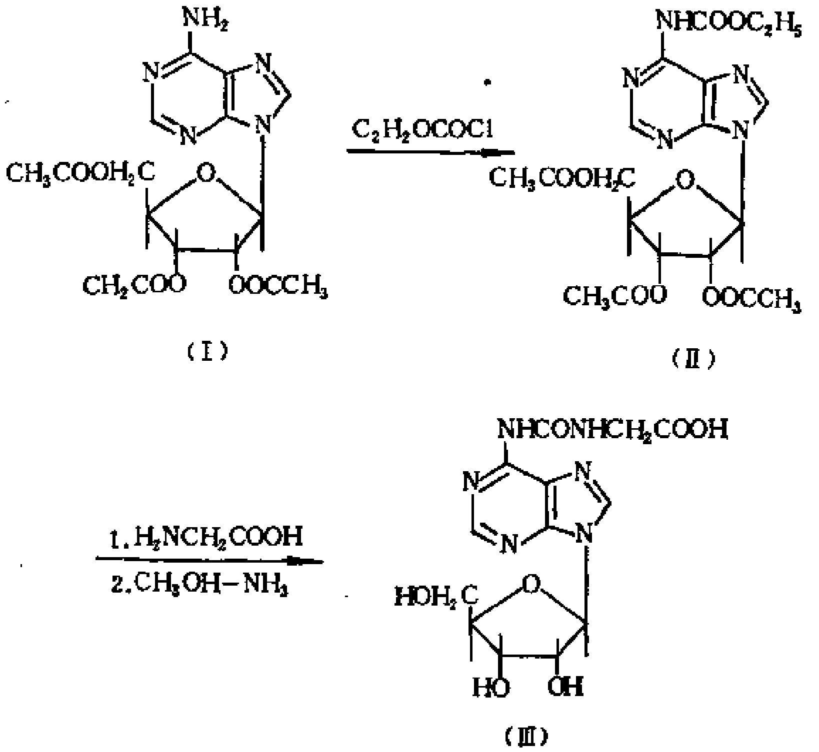


分子式 $C_{13}H_{16}N_6O_7$ **分子量** 368.31

理化参数 熔点 214～216℃。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\varepsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1.2	271 276	18.2 19.1	238	0.59	1.58	0.57
5.0	269 276	20.9 17.1	230	0.59	0.78	0.00
12	270 277 298	13.5 13.8 12.8	236	0.57	1.00	0.00

制备方法[1]



将 4.20g(10.7mmol)2′,3′,5′-*O*-三乙酰基腺苷(Ⅰ)溶于 80mL 吡啶中，在－5℃搅拌下滴加 3.05mL (3.48g，32.1mmol) 乙氧羰基氯，将粉红色溶液移至室温放置18小时，淡棕色溶液浓缩干，溶于20mL氯仿，通过2.5×100cm的硅胶柱纯化，用乙酸乙酯洗脱，合并浓缩得2.71g (58.2%) 白色固体9-(2,3,5-*O*-三乙酰β-D-呋喃核糖基)-嘌呤-6-氨甲酸乙酯(Ⅱ)，熔点 60～65℃。930mg(Ⅱ)和300mg(4mmol) 甘氨酸的 40mL吡啶，于115℃密封搅拌加热 6 小时，冷至室温，滤去过量甘氨酸，将滤液抽干，在100mL4.5mol/L氨/甲醇中搅拌20小时，抽干，在300mL热乙醇中重结晶，5℃二天后过滤得380mg(52%)N^6-甘氨酸羰基腺苷(Ⅲ)。

参 考 文 献

〔1〕 Chheda, G. B. and Hong, C. I.; *J. Med. Chem.*, 14, 748(1971).

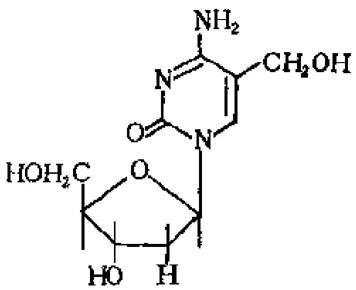
5-羟甲基脱氧胞苷

Ⅱ-4(1)-0025

5-Hydroxymethyldeoxycytidine

别名 5-羟甲基胞嘧啶脱氧核苷 5-Hydroxymethylcytosine deoxyriboside

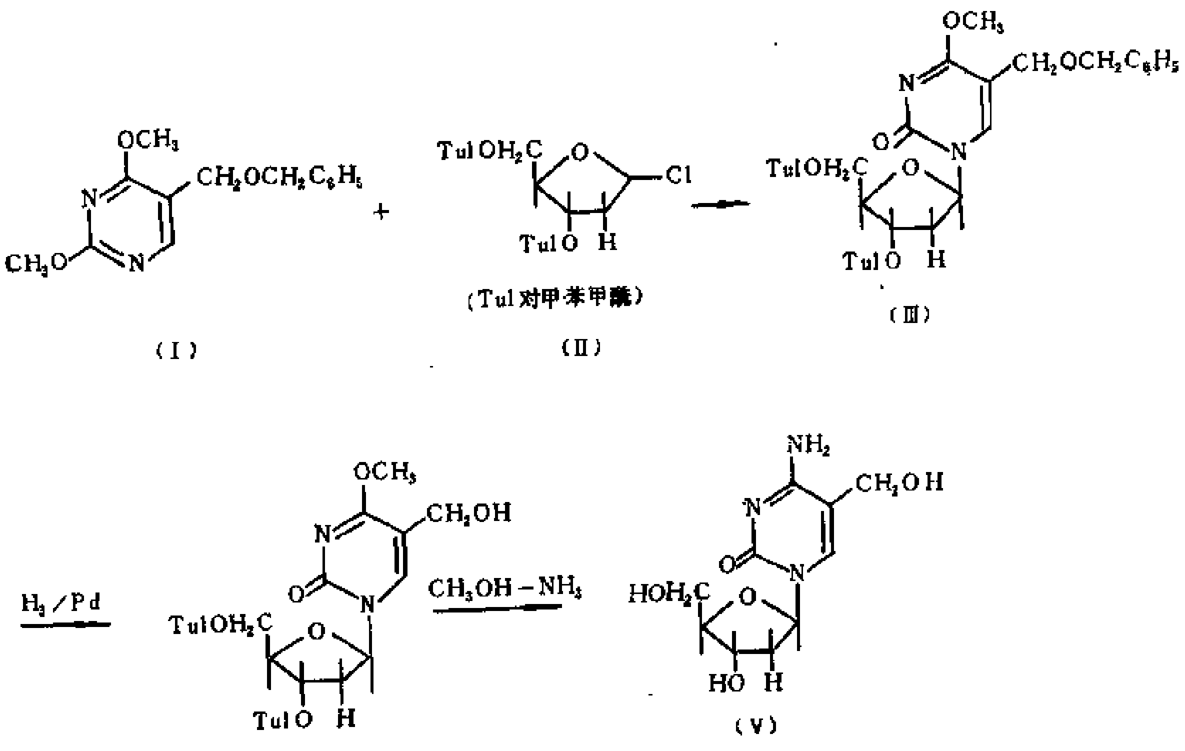
结构式



分子式 $C_{10}H_{15}N_3O_5$ **分子量** 257.24

理化参数 熔点203℃（分解）。$[\alpha]_D^{20}+51°$（水）。pK3.5（碱性基团）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\varepsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	A_{250}/A_{260}	A_{280}/A_{260}	A_{290}/A_{260}
1	283	12.6	243	0.64	2.47	2.27
7	272		247	0.97	1.17	0.58
13	274		252	0.97	1.17	0.68



(Tul 对甲苯甲酰)

(Ⅰ) (Ⅱ) (Ⅲ) (Ⅳ) (Ⅴ)

制备方法[1] 通过2,4-二甲氧-5-苄氧甲基嘧啶(Ⅰ)与3,5-O-二对甲苯甲酰-呋喃-2-脱氧核糖基氯(Ⅱ)反应生成1-(3,5-O-二对甲苯甲酰-β-D-呋喃-2-脱氧核糖基)-4-甲氧基-5-苄氧甲基-2-嘧啶酮(Ⅲ)。将(Ⅲ)溶于8mL无水二氧六环，用200mg 10% 钯-碳催化剂室温氢化10小时，过滤，滤液减压抽干，油状物用乙醇和乙醚反复蒸发，干燥得1-(3,5-O-二对甲苯甲酰-β-D-呋喃-2-脱氧核糖基)-4-甲氧基-5-羟甲基-2-嘧啶酮(Ⅳ)。90mg(Ⅳ)在10mL甲醇氨中密封于90℃加热1小时，冷却，减压抽干，用纸层析纯化后，乙醇重结晶得42%产率的5-羟甲基脱氧胞苷(Ⅴ)。

贮存 0℃以下贮存。

参考文献

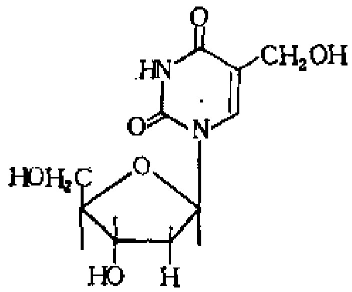
〔1〕 Prystas, M. and Sorm, F.: *Coll. Czecho. Chem. Comm.*, 31, 1053(1966).

5-羟甲基脱氧尿苷 Ⅱ-4(1)-0026

5-Hydroxymethyldeoxyuridine

别名 5-羟甲基尿嘧啶脱氧核苷 5-Hydroxymethyluracil deoxyriboside

结构式



分子式 $C_{10}H_{14}N_2O_6$ **分子量** 258.23

理化性质 自乙醇/乙醚乙酯中结晶。

理化参数 熔点 180～182℃。$[\alpha]_D^{20}+19°$(水)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\varepsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	A_{250}/A_{260}	A_{280}/A_{260}	A_{290}/A_{260}
2.7	264	9.6	233	0.70	0.51	0.10
12	264	7.0	243	0.75	0.54	0.18

制备方法[1] 于1.2 mL 3 mol/L盐酸中加入0.4 g (1.75 mmol)脱氧尿苷和0.4g多聚甲醛(paraformaldehyde，含13.3mmol甲醛)，混合物于50℃保温四天，得到脱氧尿苷∶5-羟甲基脱氧尿苷∶未知成分=1∶4∶2，合并相同反应液，用氢氧型阴树脂(100～200目)分离纯化，0.012mol/L盐酸洗脱液真空蒸馏浓缩，乙醇/乙酸乙酸处理得粉末状产物250mg(0.97mmol，以1.2g脱氧尿苷计为19%产率)。

贮存 0℃以下贮存。

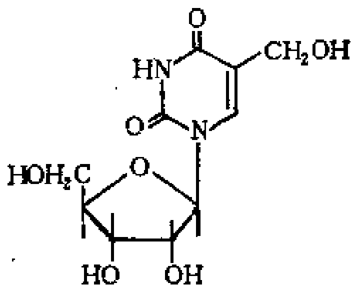
参 考 文 献

〔1〕 Cline, R. E. et al. ; *J. Amer. Chem. Soc.*, 81, 2521(1959).

5-羟甲基尿苷　　Ⅱ-4(1)-0027

5-Hydroxymethyluridine

结构式



分子式　$C_{10}H_{14}N_2O_7$　　**分子量**　274.23

理化参数　熔点167～168℃。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\varepsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$
2	264	9.5	233	0.70	0.52
7	263				0.53
12	263	7.0	243	0.79	0.45

制备方法[1]　1.22 g (5 m mol) 尿苷加 0.3 g 多聚甲醛 (10mmol甲醛) 和 4mL 0.5mol/L 盐酸，回流 2 小时，用阴离子交换树脂分离纯化(参考5-羟甲基脱氧尿苷制备方法，Ⅱ-4(1)-0026)，收集主峰，减压浓缩，加乙醇浓缩多次，加乙酸乙酯和乙醚得到 282mg 结晶产物，乙醇-乙醚重结晶得146mg针状结晶。

贮存　0℃以下贮存。

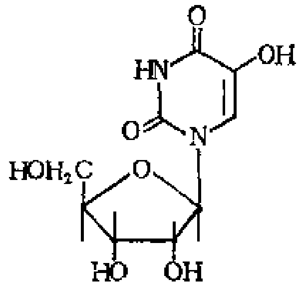
参 考 文 献

〔1〕 Cline, R. E. et al. ; *J. Amer. Chem. Soc.*, 81, 2521(1959).

5-羟基尿苷　　Ⅱ-4(1)-0028

5-Hydroxyuridine

结构式



分子式 $C_9H_{12}N_2O_7$ **分子量** 260.21

理化参数 熔点242～245℃。p*K*7.8(酸性基团)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\varepsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
2	280		245	0.56	1.76	1.46
7	280	8.2				
12	306		267	1.29	0.80	1.16

制备方法[1] 于约 60mL 溴水加入 2.5g (0.010 mol) 尿苷至溶液呈黄色，通空气至无色，加3g一氧化铅，混合物在蒸气浴上搅拌40分钟，至体积留下三分之一，置于冰浴冷却，滤去氧化铅和溴化铅，用少量冰水洗，用树脂除去阳离子，滤液冻干，加100mL无水乙醇，浓缩至50mL，冰箱过夜，结晶溶于少量热水，过滤，加四倍体积热乙醇，得1g(38%)5-羟基尿苷。

贮存 室温下贮存。

参 考 文 献

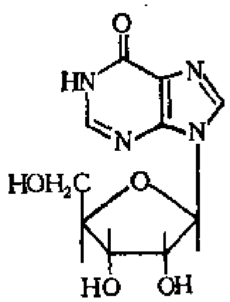
〔1〕 Roberts, M. and Visser, D. W.; *J. Amer. Chem. Soc.*, 74, 668(1952).

肌 苷 Ⅱ-4(1)-0029

Inosine

别名 次黄嘌呤核苷 Hypoxanthine riboside; 9-β-D-呋喃核苷次黄嘌呤 9-β-D-Ribofuranosidohypoxanthine

结构式



分子式 $C_{10}H_{12}N_4O_5$ **分子量** 268.23

理化性质 自80% 乙醇得无水针状结晶，自水中得含2分子水的片状结晶。水中溶解度1.6g/100mL(20℃)；极难溶于乙醇。在稀无机酸中易水解产生次黄嘌呤和D-核糖。

理化参数 熔点218℃。$[\alpha]_D^{25}$ -52.6°(C=2.5，水)。pK1.2(碱性基团)；8.8，12.3(酸性基团)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\varepsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\varepsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{280}}$
0	251	10.9	9.0	221	1.21	0.11	0.00
3-6	248.5	12.2	7.1	223	1.68	0.25	0.03
11	253	13.1	11.7	224	1.05	0.18	0.01

制备方法

一、从2-巯基肌苷制备[1] 2g 2-巯基肌苷铵盐(见N^2,N^2-二甲基鸟苷制备，Ⅱ-4(1)-0022)的70mL水溶液，搅拌下加入3g蓝尼镍(Raney Nickel)，于60℃保温2小时，过滤，滤液浓缩干，水中重结晶得0.8g肌苷。

二、从5-氨基-4-氨甲酰咪唑核苷直接制备[2] 2g(7.74mmol)5-氨基-1-β-D-呋喃核糖基-4-咪唑酰胺加新鲜制备的乙醇钠乙醇溶液(0.8g金属钠加40mL乙醇制备)，搅拌下加2.29g(31.1mmol)甲酸乙酯，回流，迅速生成沉淀，3小时后加50mL水，用氢型阳离子交换树脂调pH7，过滤，水洗，合并滤液和洗液，抽干，水中重结晶得1.55g(74%)肌苷。

贮存 室温下贮存。

参考文献

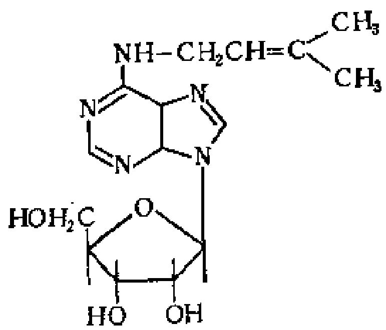
〔1〕 Yamazaki, A. et al.: *J. Org. Chem.*, 32, 3032(1967).
〔2〕 Yamazaki, A. et al.: *J. Org. Chem.*, 32, 3068(1967).

N^6-(Δ^2-异戊烯基)腺苷 Ⅱ-4(1)-0030

N^6-(Δ^2-Isopentenyl)adenosine

别名 N^6-(3-甲基-丁烯-2)腺苷 N^6-(3-Methyl-2-butenyl) adenosine；6-(γ,γ-二甲基丙烯氨基)-9-β-D-呋喃核糖基嘌呤6-(γ,γ-Dimethylallylamino)-9-β-D-ribofuranosylpurine

结构式



分子式 $C_{15}H_{21}N_5O_4$ **分子量** 335.36

理化参数 熔点145~147℃。$[\alpha]_D^{25}-103°$($C=0.14$，乙醇)。pK3.8(碱性基团)。紫外吸收光谱

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\varepsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1	265	20.4	232	0.57	0.69	0.18
7,12	269	20.0	234	0.52	0.94	0.36

制备方法

一[1]、1.7g(6.4mmol)腺苷和1.7g(11.4mmol)1-溴-3-甲基-2-丁烯溶于20mL二甲基甲酰胺，在20℃搅拌15小时，加20g二甲胺和30mL甲醇，20℃12小时，减压抽干，加水反复浓缩(5次)，溶于15mL水，用三氯甲烷抽提5小时，硫酸钠干燥，浓缩,乙醇中得1.0g(47%)产物。

二[2]、将6-氯嘌呤核苷与γ,γ-二甲基丙烯胺在乙醇中回流，得96%产率，于乙腈-乙醇(3:1)中重结晶。

三[2]、从转移RNA中分离纯化。

贮存 0℃以下贮存。

参 考 文 献

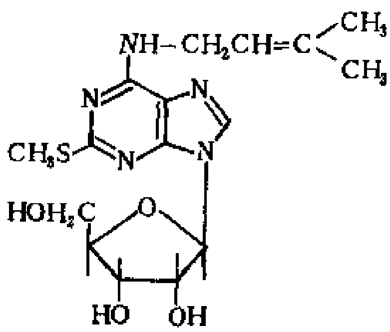
〔1〕 Martin, D. M. G. and Reese, C. B.: *J. Chem. Soc*(C), 1731(1968).
〔2〕 Hall, R. H. et al.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 88, 2614(1966).

N^6-(Δ^2-异戊烯基)-2-甲硫基腺苷 Ⅰ-4(1)-0031

N^6-(Δ^2-Isopentenyl)-2-methylthioadenosine

别名 6-(3-甲基-2-丁烯-氨基)-2-甲硫基-9-β-D-呋喃核糖基嘌呤 6-(3-Methyl-2-butenylamino)-2-methylthio-9-β-D-ribofuranosylpurine

结构式

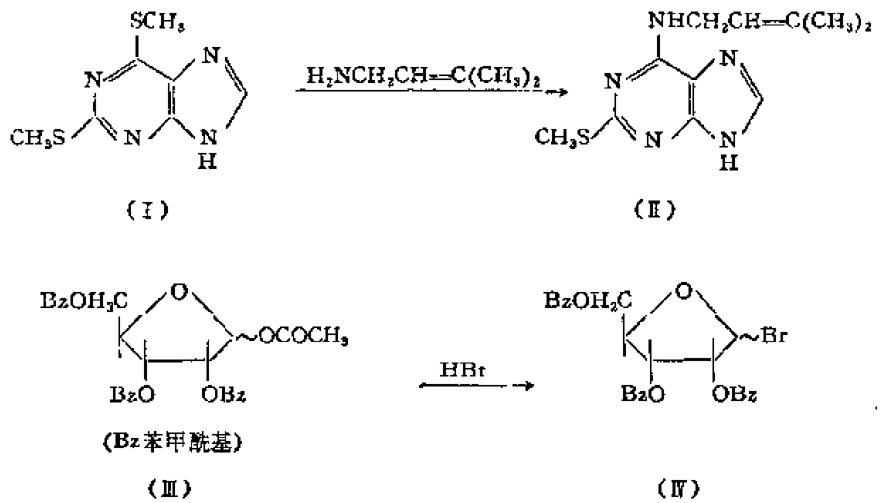


分子式 $C_{16}H_{23}N_5O_4S$ **分子量** 381.15

理化参数 熔点194~195℃。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\varepsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1 （乙醇中）	246 286	18.6 16.1	265	1.27	1.12	1.13'
（乙醇）	244 283	25.3 18.1	258	1.78	1.85	1.67
10 *（乙醇中）	243 283	24.9 18.0	259	1.79	1.86	1.68

制备方法[1]



1.03g(4.87mmol)2,6-二甲硫基嘌呤（Ⅰ）加4.0g γ,γ-二甲基丙烯胺，回流30小时，冷却，加水析出沉淀，过滤，干燥后用热乙醇研磨得无色结晶0.65g(64%)6-(3-甲基-2-丁烯氨基)-2-甲硫基嘌呤（Ⅱ）。500mg(2.0mmol)（Ⅱ）和80mg(2.0mmol) 氢氧化钠的20mL 50%乙醇溶液，加含544mg(2.0mmol) 氯化汞的10mL乙醇，热溶液冷却，过滤，干燥得（Ⅱ）汞盐。于1.2g 1-乙酰基-2,3,5-*O*-三苯甲酰呋喃核糖（Ⅲ）的2mL无水二氯甲烷中加6mL 30～32%溴化氢的乙酸溶液，放置1.5小时，减压浓缩，用无水甲苯反复蒸馏除去溴化氢和乙酸，得1-溴-2,3,5-*O*-三苯甲酰呋喃核糖(Ⅳ)。

将908mg（Ⅱ）的汞盐的20mL沸二甲苯和Ⅳ的20mL二甲苯回流2小时，浓缩，加石油醚冷却得沉淀，过滤，固体用氯仿抽提，氯仿液经30%碘化钾和水洗涤后，浓缩，加150mL 15mol/L甲醇氨封管处理过夜，浓缩，粗产品于乙醇水中重结晶，得320mg(42%)N^6-(Δ^2-异戊烯基)-2-甲硫基腺苷。

贮存 0℃以下贮存。

参 考 文 献

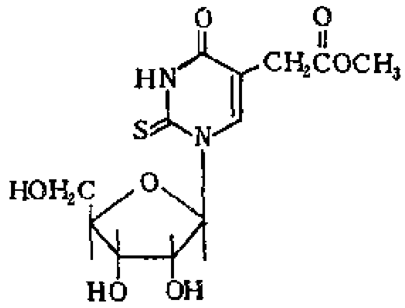
〔1〕 Burrows, W. J. et al.: *Biochemistry*., 8, 3071(1969).

5-甲氧羰甲基-2-硫代尿苷　　Ⅱ-4(1)-0032

5-Methoxycarbonylmethyl-2-thiouridine

别名　5-羧甲基-2-硫代尿苷甲酯　5-Carboxymethyl-2-thiouridine methyl ester

结构式

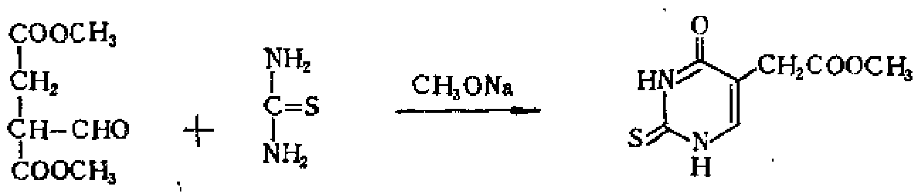


分子式　$C_{12}H_{16}N_2O_7S$　　**分子量**　332.33

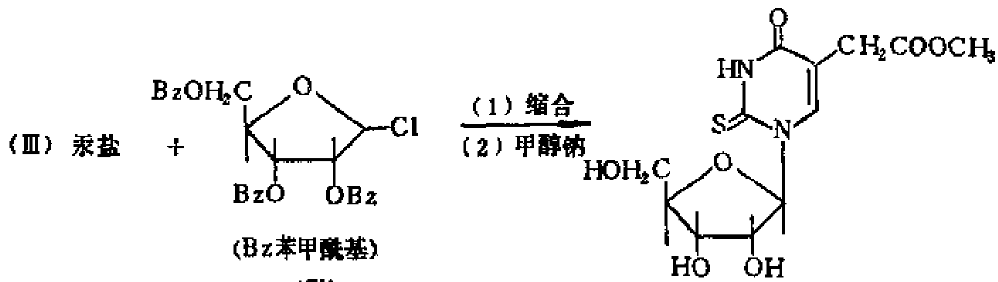
理化参数　熔点199℃。$[\alpha]_D^{25}+9°$($C=0.2$，95%乙醇)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	A_{250}/A_{260}	A_{280}/A_{260}	A_{290}/A_{260}
1	277	15.6	244	0.68	1.54	1.41
7	200 277	14.3 15.8	244	0.76	1.45	1.24
12	242 271	22.4 15.8	261	1.16	0.86	0.46

制备方法[1]



(Ⅰ)　(Ⅱ)　(Ⅲ)



(Bz苯甲酰基)

(Ⅳ)

17.4g(0.1mol) 甲酰琥珀酰二甲酯（Ⅰ）溶于300mL甲醇，于0℃加入 7.6g(0.1mol) 硫脲（Ⅱ）和5.4g(0.1mol) 甲醇钠，置室温5天后，回流3小时，加5.7mL乙酸，浓缩至约

200mL，加200mL冷水，得4.65g白色沉淀，从母液又可得2.92g，共7.57g(38%)5-甲氧羰甲基-2-硫代尿嘧啶(Ⅱ)，乙醇重结晶，得无色针状物。熔点218～220℃。2.5g(12.5mmol)Ⅱ溶于75mL水和25mL *N*,*N*-二甲基乙酰胺，热至100℃，加4.0g(12.5mmol)乙酸汞，回流35分钟，过滤得4.9g(12.3mmol，98%)Ⅲ的汞盐，加入18.5mmol 2,3,5-O-三苯甲酰-D-核糖基氯(Ⅳ)的75mL二甲苯溶液，回流1.5小时，产物于甲醇钠的甲醇溶液中回流脱去苯甲酰基，用乙醇重结晶得0.45g(11%)产物。

贮存 0℃以下贮存。

参 考 文 献

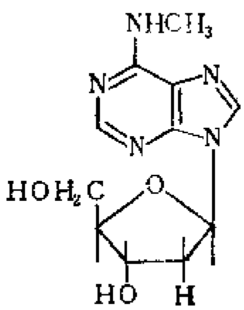
〔1〕 Baczynskyz, L. et al.: *Can. J. Biochem*., 47, 1202(1969).

N[6]-甲基脱氧腺苷 Ⅱ-4(1)-0033

N[6]-Methyldeoxyadenosine

别名 6-甲氨基嘌呤脱氧核苷 6-Methylaminopurine deoxyribonucleoside；2′-脱氧-6-甲氨基-9-β-D-呋喃核糖基嘌呤 2′-Deoxy-6-methylamino-9-β-D-ribofuranosyl purine

结构式



分子式 $C_{11}H_{15}N_5O_3$ **分子量** 265.27

理化参数 熔点206～208℃。$[\alpha]_D^{25}$ -23.5°(*C*=1.0，水)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^3$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1	261	15.1	230	0.65	0.40	0.11
7	265	15.4	229	0.61	0.65	0.22
11	265	15.4	226	0.58	0.63	0.11

制备方法[1] 将2g脱氧腺苷（含1分子水）加入6g对甲苯磺酸甲酯的35mL *N*,*N*-二甲基甲酰胺中，搅拌15小时，加助滤剂过滤，于滤液加300mL丙酮，激烈搅拌20分钟得白色沉淀，过滤，用丙酮洗涤后得2.8g 2′-脱氧-1-甲基腺苷（含1分子水），熔点153～155℃。2g上述产物的碘盐，溶于50mL 0.2mol/L氢氧化钾蒸汽浴上加热20分钟，冷至室温，加10%对甲苯磺酸水溶液小心调pH7，减压抽干，用50mL冷甲醇抽提2次，固体于35mL热甲醇重结晶，得0.6g。

贮存 0℃以下贮存。

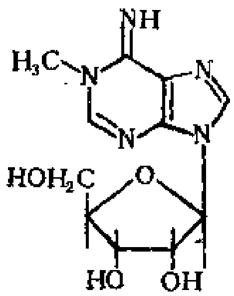
参 考 文 献

〔1〕 Jones, J. W. and Robins, R. K.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 85, 193(1963)

1-甲基腺苷 Ⅱ-4(1)-0034

1-Methyladenosine

结构式



分子式 $C_{11}H_{15}N_5O_4$ **分子量** 281.27

理化性质 自丙酮中得细小针状结晶。在0.25 mol/L 氢氧化钠中，100℃，75分钟转变为N^6-甲基腺苷(6-甲氨基嘌呤核苷)。0.5mol/L盐酸中，100℃45分钟水解为1-甲基腺嘌呤和D-核糖。

理化参数 熔点214～217℃(分解)。$[\alpha]_D^{25}$ -59°(C=2.0，水)。pK 8.8（碱性基团)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
2	258	13.7	232	0.81	0.23	0.04
7	258	13.9	232	0.81	0.23	0.05
10.5	259	14.6	231	0.76	0.35	0.30

制备方法[1]

一、5g腺苷加进含10g对甲苯磺酸甲酯的500mL *N*,*N*-二甲基甲酰胺中，室温搅拌24小时，加助滤剂过滤，无色滤液加丙酮至500mL，15℃放置48小时后过滤出固体，热空气干燥，白色固体溶于250mL甲醇中，加助滤剂过滤，滤液置10～15℃下24小时，过滤得4g 1-甲基腺苷的甲苯磺酸盐，熔点197～199℃。

二、20g腺苷加250mL含20mL碘甲烷的*N*,*N*-二甲基乙酰胺，在28℃搅拌18小时，加助滤剂过滤，于滤液加1L丙酮，5～10℃放14小时，得白色沉淀，过滤、用丙酮、乙醚洗，干燥得25g 1-甲基腺苷的氢碘酸盐，溶于100mL水，用浓氨水调pH8，加丙酮至500mL于10～15℃放置48小时，得14g白色细结晶，过滤，用丙酮洗，干燥得成品。

贮存 0℃以下贮存。

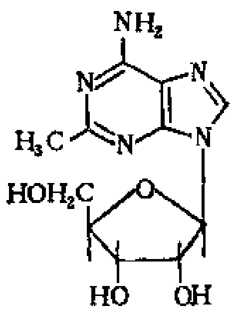
参 考 文 献

〔1〕 Jones, J. W. and Robins, R. K.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 85, 193(1963).

2-甲基腺苷　　Ⅱ-4(1)-0035

2-Methyladenosine

结构式



分子式　$C_{11}H_{15}N_5O_4$　　**分子量**　281.27

理化参数　苦味酸盐熔点>200℃(分解)。$[\alpha]_D^{23}$ −66.6°(C=1.0，水)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	A_{250}/A_{260}	A_{280}/A_{260}	A_{290}/A_{260}
1	258	14.0	230	0.84	0.40	0.05
6	264	14.5	228	0.75	0.17	0.01
13	263	15.2	230	0.75	0.17	0.01

制备方法[1]　1.8g 2-甲基腺嘌呤与12mL乙酸酐回流2.5小时，冷却，加12mL乙醇得二乙酰基化合物。1.24g上述产物溶于60mL热的50%乙醇中，用9.4mL 1mol/L氢氧化钠和1.28g氯化汞的15mL乙醇溶液处理，得1.73g(80%)氯汞-2-甲基-6-乙酰氨基嘌呤。将氯汞化物溶于120mL二甲苯，加1.5g三乙酰-D-呋喃核糖基氯，回流2小时，冷却，石油醚处理后得固体，干燥，用冷氯仿抽提，洗氯仿液，干燥抽干，然后于0℃用甲醇-氨脱去乙酰基，水中重结晶得11%产率的2-甲基腺苷。

贮存　0℃以下贮存。

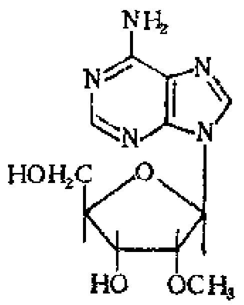
参 考 文 献

〔1〕 Daval, J. and Lowy, B. A.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 74, 1563(1952).

2′-*O*-甲基腺苷　　Ⅱ-4(1)-0036

2′-*O*-Methyladenosine

结构式



分子式 $C_{11}H_{15}N_5O_4$ **分子量** 281.27

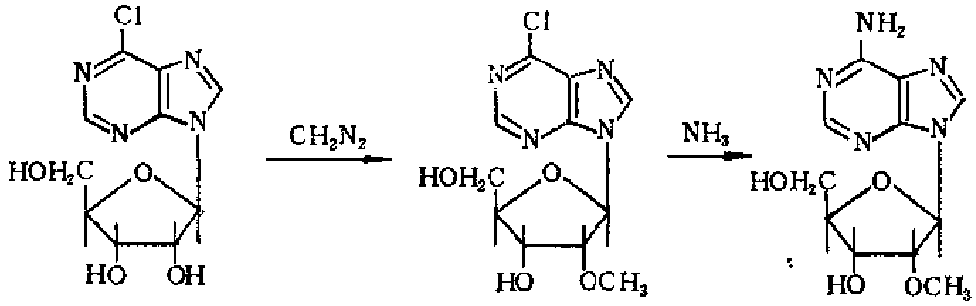
理化参数 熔点201～202℃。$[\alpha]_D^{25}$ −57.9°(C=1.0，水)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$
1	257	13.8	229	0.86	0.21
7	259	13.9	228	0.80	0.15
12	259	18.9	227	0.79	0.15

制备方法

一[1]、100g(0.97mol)N−亚硝基甲脲分批在1小时内加入搅拌的600mL 40%氢氧化钾水溶液和400mL 1,2−二甲氧乙烷，保持0℃，搅拌20分钟，将黄色清液倒入氢氧化钾片中，过滤，于重氮甲烷溶液一次加入10g(0.038mol)腺苷的100mL水溶液，保持80℃，激烈反应使黄色迅速消失，减压浓缩，溶于100mL水，再次用等量的重氮甲烷的1,2−二甲氧乙烷溶液于80℃处理，减压浓缩得油状物，用乙醇反复浓缩三次，残液溶于50mL无水二甲基甲酰胺和20mL 2,2−二甲氧丙烷中，用9.4g(0.046mol)对甲苯磺酸(1分子水)处理，20℃放置24小时，用甲醇钠甲醇溶液中和，减压抽干，固体溶于10mL水．用氯仿连续抽提16小时，氯仿抽提液用120g硅酸柱(7cm^2×19cm)分离，得到4.3g(37%) 2′,3′−异丙叉腺苷和3.5g(37%)的2′−和3′−O−甲基腺苷。3.5g 2′−和3′−O−甲基腺苷混合物溶于20mL乙醇中，结晶得1.8g(17%，以腺苷计)无色棱形2′−O−甲基腺苷。或将3.5g 2′−和3′−O−甲基腺苷溶于5mL乙醇−水(2:1)，用氢氧型阴离子交换树脂3cm^2×50cm柱层析分离，乙醇−水(2:1)洗脱得1.7g 2′−O−甲基腺苷，于乙醇中重结晶得1.1g成品。

二[2]、1g 6−氯−9−β−D−呋喃核糖基嘌呤溶于100mL热水，搅拌下用约120mmol重氮甲烷的125mL 1,2−二甲氧丙烷处理，2小时后黄色消失，溶液减压抽干，油状物加乙醇蒸发二次，溶于80mL 0℃饱和的甲醇−氨，封管，90℃放置10小时，抽去溶剂，溶于5mL水，用强阴离子交换树脂(2.5×27cm)分离，2′−O−甲基腺苷于无水乙醇重结晶，得210mg。



贮存 0℃以下贮存。

参 考 文 献

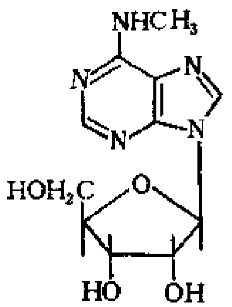
〔1〕 Martin, D. M. B. et al.: *Biochemistry*., 7,1406(1968).
〔2〕 Khwaja, T. A. and Robins, R. K.; *J. Amer. Chem. Soc.*, 88, 3640(1966).

N^6-甲基腺苷 Ⅱ-4(1)-0037

N^6-Methyladenosine

别名 6-甲氨基嘌呤核糖核苷 6-Methylaminopurine ribonucleoside

结构式



分子式 $C_{11}H_{15}N_5O_4$ **分子量** 281.27

理化性质 易吸潮固体。

理化参数 熔点135～140℃软化，160℃熔化，208℃分解。$[\alpha]_D^{25}-54°$ ($C=0.6$，水)。pK4.0(碱性基团)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1	262	16.6	231	0.66	0.41	0.13
7	266	15.9	229	0.57	0.68	0.24
13	266	15.9	232	0.57	0.68	0.24

制备方法

一、从甲基腺苷制备[1] 5g甲基腺苷溶于25mL 4.25mole/L氢氧化钠中，于蒸汽浴上

热75分钟，冷至5～10℃，用10%对甲苯磺酸调pH7.5，减压蒸干，加50mL甲醇，减压抽干，加乙酸乙酯用索斯利特萃取器(Soxhlet's extractor)萃取10小时，减压除去乙酸乙酯，得3.2g粗产品，于乙酸乙酯重结晶，产物于206～208℃软化，熔点219～221℃。

二、从6-氯嘌呤核苷制备[2] 500mg(1.74mmole) 6-氯-9-β-D-呋喃核糖基嘌呤(6-氯嘌呤核苷)溶于25mL 40%甲胺水溶液，封管80℃过夜，真空浓缩．残渣于甲醇中结晶，得361mg(74%)，二次甲醇结晶，得132mg (36.6%)，于110℃(106.656Pa) 干燥72小时，得无色产物。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

〔1〕 Jones, J. W. and Robins, R. K.; *J. Amer. Chem. Soc.*, 85,193(1963).

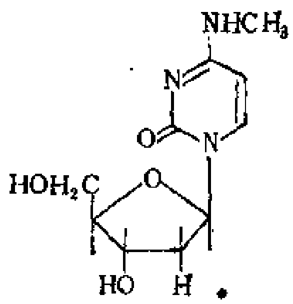
〔2〕 Johnson, J. A. Jr. et al.; *J. Amer. Chem. Soc.*, 80,699(1958).

N^4-甲基脱氧胞苷 Ⅱ-4(1)-0038

N^4-Methyldeoxycytidine

别名 1-β-2′-脱氧呋喃核糖基-4-甲氨-2-嘧啶酮 1-β-2′-Deoxyribofuranosyl-4-methylamino-2-pyrimidinone

结构式



分子式 $C_{10}H_{15}N_3O_4$ **分子量** 241.24

理化参数 熔点191～193℃。pK4.0(碱性基团)。$[\alpha]_D^{28}$ +48°(C=1.2，水)。紫外吸收数据

pH	λ最大nm	ε最大×10³	λ最小nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{300}}{A_{280}}$
1	282	14.6	242	1.98	0.35
6～12	236 270	9.05 11.7	229 248		

制备方法[1] 2g(0.004mol)1-(3,5-O-二苯甲酰-2-脱氧-β-D-核糖基)-4-巯基尿嘧啶加50mL含45%甲胺的甲醇溶液，封管100℃加热12小时，过滤，滤液浓缩至浆状，加水浓缩除去苯甲酸乙酯，用二氯甲烷抽提除去苯甲酰胺，活性炭处理，减压抽干，加甲醇浓缩，甲醇中重结晶，得0.75g(71%) 产品。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

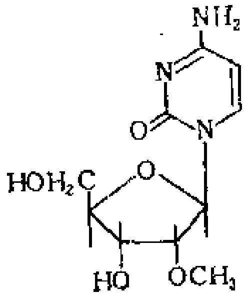
〔1〕 Wempen I. et al.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 83, 4755(1961).

2′-O-甲基胞苷

Ⅱ-4(1)-0039

2′-*O*-Methylcytidine

结构式



分子式 $C_{10}H_{15}N_3O_5$ **分子量** 257.24

理化参数 熔点252～253℃。$[\alpha]_D^{21}$ +54°(*C*=1.1，水)。p*K*4.2（碱性基团）。紫外吸收数据

pH	λ最大nm	ε最大×10⁻³	λ最小nm	A_{250}/A_{260}	A_{280}/A_{260}	A_{290}/A_{260}
1	281	12.9	241	0.43	2.13	1.61
11	272	8.9	251	0.85	0.94	0.31

制备方法[1] 200g(1.94mol)*N*-亚硝基甲脲分批在搅拌下加进600mL40%氢氧化钾水溶液和750mL1,2-二甲氧乙烷中，保留在5℃。将所得重氮甲烷溶液倒入于80℃搅拌的5g(0.019mol)胞苷的200mL水溶液中，冷却，室温放置16小时，减压浓缩，用含水乙醇和无水乙醇反复浓缩多次，于20℃加5.72g(0.03mol)对甲苯磺酸，振摇15分钟，20℃放置1小时，用2mol/L甲醇钠甲醇溶液中和，抽干，溶于30mL吡啶，加29mL乙酸酐振摇12小时，加25mL甲醇，30分钟后浓缩，用氯仿-水分配，水相用氯仿抽提2次，合并氯仿，干燥，抽干，用硅胶柱（40g硅胶，6×8cm）纯化，将氯仿洗脱液抽干，得5.1g。将固体溶于200mL 4.5mol/L二甲胺甲醇溶液中，20℃放置9小时，减压浓缩，用80g硅胶2.5×25cm柱层析分离纯化，可将2′,3′-*O*-异丙叉胞苷与2′-和3′-*O*-甲基胞苷分开，2′-和3′-*O*-甲基胞苷混合物共1.56g(30%)。将上述混合物于乙醇中结晶得到0.713g2′-*O*-甲基胞苷，为无色斜方晶体（为胞苷的13.5%产率）；上述乙醇母液，浓缩得4.9g，溶于5mL水，用氢氧型阴离子交换树脂6×150cm柱层析分离，又可得到0.11g 2′-*O*-甲基胞苷。

贮存 0℃以下。

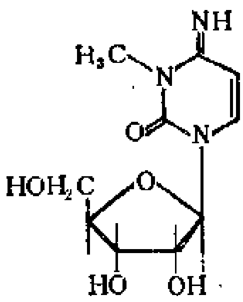
参 考 文 献

〔1〕 Martin, D. M. B. et al.: *Biochemistry*, 7, 1406(1968).

3-甲基胞苷　　Ⅱ-4(1)-0040

3-Methyleytidine

结构式



分子式　$C_{10}H_{15}N_3O_5$　　**分子量**　257.24

理化性质　硫酸甲酯为针状结晶。

理化参数　硫酸甲酯熔点193～194℃。pK8.7(碱性基团)；＞12(酸性基团)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
4	278	11.8	243	0.47	1.89	1.21
7	278	11.6	243	0.48	1.82	1.18
12	266	9.0	243	0.73	0.69	0.26

制备方法

一、用硫酸二甲酯[1]　0.5g(2mmol)胞苷溶于50mL二甲基甲酰胺，加2mL(20mmol)硫酸二甲酯，37℃ 30分钟后加甲醇至20mL，加乙醇使混浊，得80%3-N-甲基胞苷的硫酸盐。

二、用重氮甲烷[2]　22.5mg胞苷溶于10mL水，加15mL(90mol)的重氮甲烷醚溶液振摇，得40%3-甲基胞苷。

贮存　0℃以下。

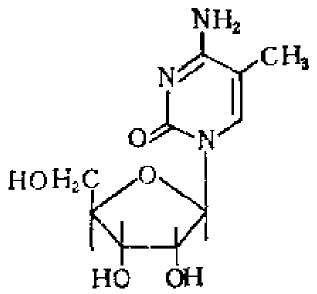
参 考 文 献

[1] Brookes, P. and Lawley, P. D.: *J. Chem. Soc.*, 1346(1962).
[2] Hains, J. A. et al,: *J. Chem. Soc.*, 1406(1962).

5-甲基胞苷　　Ⅱ-4(1)-0041

5-Methyleytidine

结构式



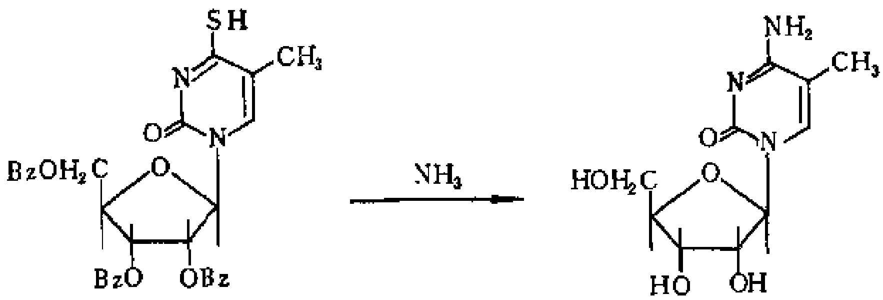
分子式 $C_{10}H_{15}N_3O_5$ **分子量** 257.24

理化性质 亚硝酸脱氨产生胸腺嘧啶核苷。

理化参数 熔点210～211℃(分解)。$[\alpha]_D^{23}$ $-3°$($C=2.5$，1mol/L氢氧化钠)。pK4.3(碱性基团)；＞13(酸性基团)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{280}}$
0	287	12.6	245	0.33	3.59	3.96
7	277	8.9	255	1.03	1.45	0.96
14	279	9.0	256	1.05	1.58	1.19

制备方法[1]



(Bz=苯甲酰基)

(Ⅰ) (Ⅱ)

4.0g(0.7mmol)三苯甲酰基-β-D-呋喃核糖基胸腺嘧啶和7.8g(3.5mmol)五硫化磷的125mL吡啶溶液，滴加0.4mL水，回流7小时，浓缩至1/3体积，倒入激烈搅拌的1L水中，搅拌半小时，过滤，固体溶于二氯甲烷，过滤，水洗滤液，硫酸钠干燥，浓缩，乙醇研磨得黄色固体，乙醇中重结晶得3.4g(83%)1-(2,3,5-O-三苯甲酰基-β-D-呋喃核糖基)-4-巯基胸腺嘧啶（Ⅰ）。熔点189～191℃。2.5g(Ⅰ)用80mL0℃饱和的醇氨处理，封管100℃反应2小时，浓缩，加水蒸馏除去苯甲酸乙酯，水相用氯仿抽提除去苯甲酰胺，活性炭脱色，减压抽干，溶于热的95%乙醇，冷却得0.88g(80%)白色固体，于乙醇中重结晶得纯品(Ⅱ)。

贮存 室温下保存。

参 考 文 献

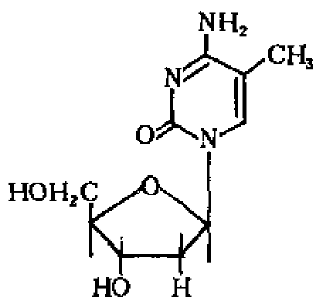
〔1〕 Fox, J. J. et al., *J. Amer. Chem. Soc.*, 81, 178(1959).

5-甲基脱氧胞苷 Ⅱ-4(1)-0042

5-Methyldeoxycytidine

别名 5-甲基胞嘧啶脱氧核苷 5-Methylcytosine deoxyribosiole; 1-β-D-2′-呋喃脱氧核苷-5-甲基胞嘧啶 1-β-D-2′-Deoxyribofuranosido-5-methylcytosine

结构式



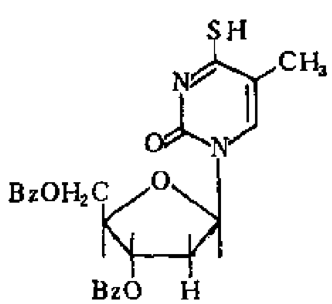
分子式 $C_{10}H_{15}N_3O_4$ **分子量** 241.24

理化性质 易吸潮的针状结晶。溶于水。

理化参数 熔点211 212℃。$[\alpha]_D^{22}$ +43°(C=1.4, 水)。pK4.4(碱性基团); >13(酸性基团)。紫外吸收数据

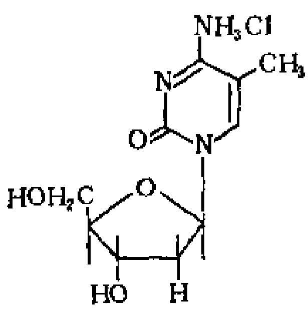
pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\epsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1	287	12.4	3.2	245	0.42	2.93	3.12
7	277	8.5	6.0	255	1.00	1.54	1.01
14	279	8.8	5.3	256	0.98	1.66	1.13

制备方法[1] 20g(4.4mmol)二苯甲酰脱氧胸腺苷溶于600mL吡啶中，用31g(0.17mol)五硫化磷和1.8mL水处理，回流4小时，浓缩一半体积，倒入搅拌的冷水中，过滤，固体溶于氯仿，过滤，水洗滤液，硫酸钠干燥，过滤，真空浓缩，1L热乙醇中得黄色针状结晶15g



(Bz=苯甲酰基)

(Ⅰ)



(Ⅱ)

(72%)1-(3,5-二苯甲酰基-β-D-2-呋喃脱氧核糖基)-4-巯基胸腺嘧啶，即3′,5′-二苯甲酰基-4-巯基脱氧胸腺苷(Ⅰ)，乙醇中重结晶，熔点156～158℃，$[\alpha]_D^{25}$ -52°(C=1.2,氯仿)。将7g(0.015mol)(Ⅰ)和80mL0℃饱和的醇氨封管100℃反应24小时，浓缩，加水蒸馏除去苯甲酸乙酯，水溶液用氯仿抽提除去苯甲酰胺，活性炭处理，过滤，真空抽干，固体溶于温热乙醇，通氯化氢气得5-甲基脱氧胞苷的盐酸盐(Ⅱ)，过滤，干燥得2.85g(70%)。熔点149～151℃(分解)。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

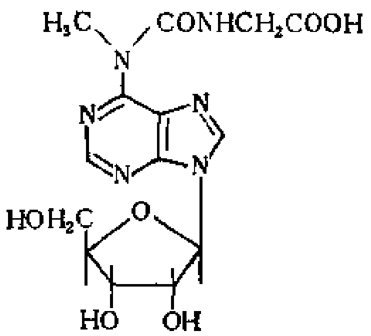
[1] Fox, J. J. et al.; *J. Amer. Chem. Soc.*, 81,178(1959).

N^6-甲基-N^6-甘氨酸酰基腺苷 Ⅱ-4(1)-0043

N^6-Methyl-N^6-glycinocarbonyladenosine

别名 *N*-[(9-β-D-呋喃核糖基嘌呤-6)-*N*-甲基氨甲酰]甘氨酸 *N*-[(9-β-D-Ribofuranosyl purin-6-yl)-*N*-methylcarbamoyl]glycine

结构式

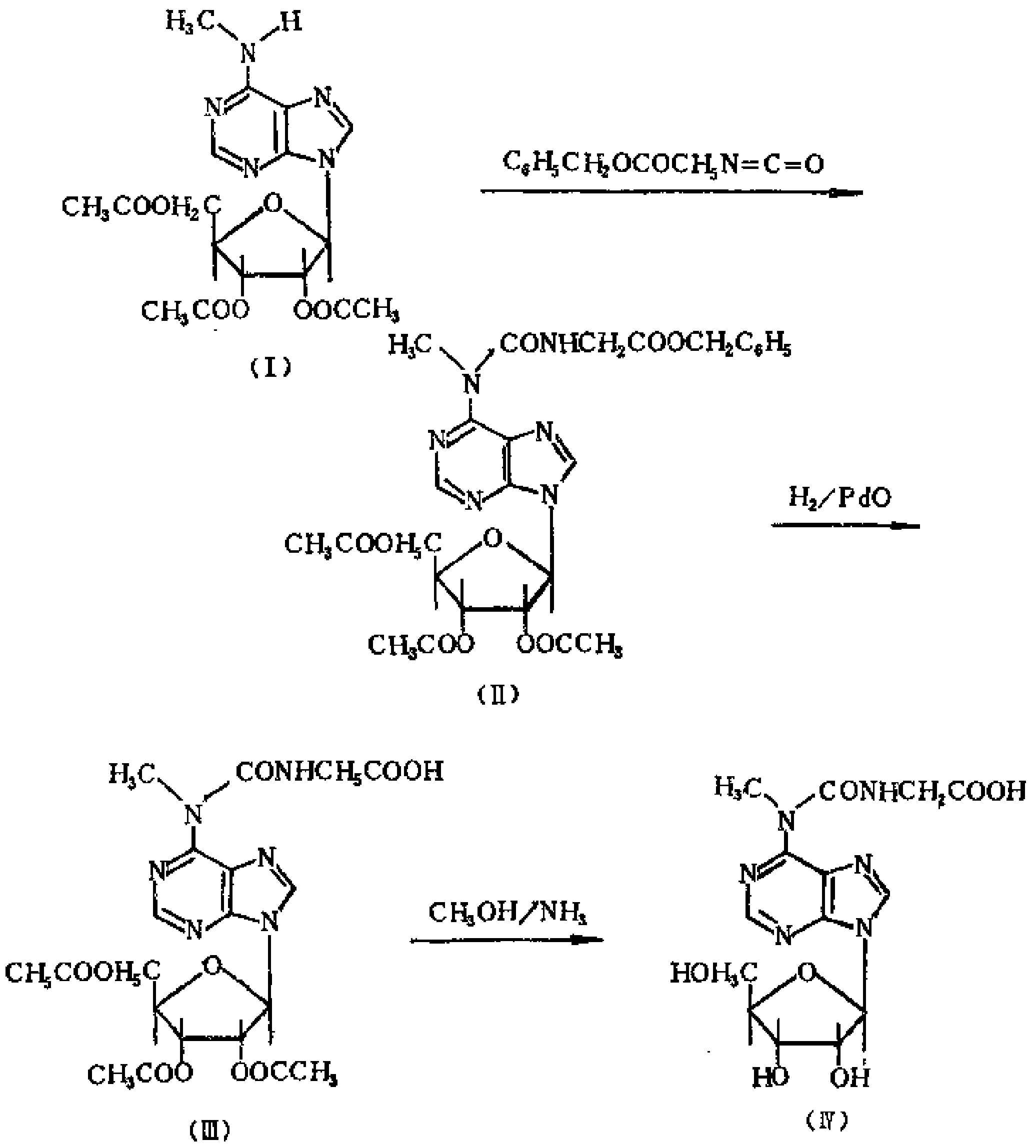


分子式 $C_{14}H_{18}N_6O_7$ **分子量** 382.33

理化参数 熔点173～174℃。$[\alpha]_D^{23}$ 33.09°(C=0.55，水)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	A_{250}/A_{260}	A_{280}/A_{260}	A_{290}/A_{260}
1.0	283	16.7	239	0.62	2.39	1.83
6.5	277 284	17.1 16.7	236	0.60	2.14	1.23
13	277 284	15.4 15.8	245	0.76	1.85	1.33

制备方法[1]



1.40g(5.0mmol)N^6-甲基腺苷（见Ⅱ-4(1)-0037）浮悬于5mL无水吡啶，加5mL乙酸酐，室温放置2小时，加5mL甲醇减压浓缩，用甲苯反复蒸发除去吡啶，得1.83g(85.9%)胶状物2′,3′,5′-O-三乙酰基-N^6-甲基腺苷(Ⅰ)，不必纯化直接用于下列反应。将1.06g(0.5mmol)(Ⅰ)的10mL无水吡啶加955mg(5.0mmol)甘氨酸苄酯的异氰酸、封管90℃加热8小时，抽干，用2.5×65cm硅胶柱层析纯化，500mL氯仿洗涤后用800mL氯仿-甲醇（49:1)洗脱2′,3′,5′-O-三乙酰基-N^6-甲基-N^6-(N-苄氧羰甲基)氨甲酰腺苷（Ⅱ），用PdO催化氢化16小时脱去苄基得（Ⅲ)和用4mol/L甲醇氨4℃4小时脱除乙酰基，抽干，乙醇中结晶2次，得342mg(32.7%)(Ⅳ)。

贮存 0℃以下。

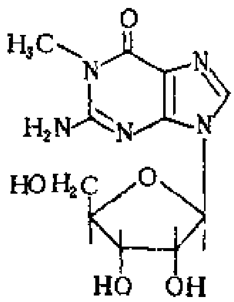
参 考 文 献

〔1〕 Butta, S. P. et al.; *Biochemistry*, 14, 3144(1975).

1-甲基鸟苷　　Ⅱ-4(1)-0044

1-Methylguanosine

结构式



分子式　$C_{11}H_{15}N_5O_5$　　**分子量**　297.27

理化性质　在0.1mol/L氢氧化钾中，370℃放置18小时稳定。

理化参数　熔点225～227℃(分解)。pK～2.4(碱性基团)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1	258	11.4	232	0.85	0.71	0.53
6	256	13.1	225	1.00	0.63	0.21
13	256	12.9	231	0.99	0.63	0.22

制备方法[1]　10g鸟苷溶于含6g粉末状无水碳酸钾的100mL二甲亚砜，加2.4mL碘甲烷，密封下室温搅拌2小时，再加2g碳酸钾和0.88mL碘甲烷，搅拌1小时，加助滤剂过滤，滤液滴进800mL二氯甲烷中，过滤，用100mL二氯甲烷洗，甲醇中重结晶得5.6g(53%)白色结晶1-甲基鸟苷。

贮存　0℃以下。

参考文献

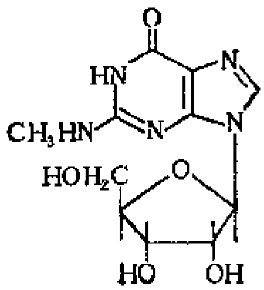
〔1〕 Broom, A. D. et al.: *Biochemistry*, 3, 494(1964).

N^2-甲基鸟苷　　Ⅱ-4(1)-0045

N^2-Methylguanosine

别名　2-甲氨基-9-β-D-呋喃核糖基-6-酮基嘌呤 2-Methylamino-9-β-D-ribofuranosylpurin-6-one

结构式



分子式 $C_{11}H_{15}N_5O_5$ **分子量** 297.27

理化参数 熔点233℃(分解)。$[\alpha]_D^{26}$ −34.6°(C=1.0，二甲亚砜/乙醇(1:1))。pK2.3(碱性基团)；9.7(酸性基团)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1	259	14.2	231	0.85	0.56	0.52
7	253	15.9	225	1.18	0.58	0.52
13	258	12.0	237	0.93	0.82	0.48

制备方法

一、从2-氯-6-硫代嘌呤核苷制备[1] 30mL50%甲胺乙醇溶液加2.5g(0.008mol)2-氯-9-β-D-呋喃核糖基-6-嘌呤硫酮(2-氯-6-硫代嘌呤核苷，室温放置1小时，减压抽干，溶于25mL水，用25%甲酸中和，抽干，25mL乙醇研磨得1.1g粗产品，水中重结晶，干燥后得400mg(15%)2-甲氨-6-硫代嘌呤核苷。将100mg上述产物溶于125mL浓氨水，水浴中保持25℃，用3mL30%过氧化氢处理，室温搅拌25小时，加助滤剂过滤，将滤液减压抽干，乙醇研磨，过滤，水中重结晶得60mg(68%)无色针状结晶。

二、从2-巯基肌苷制备[2] 10g(31.6mmol)2-巯基肌苷铵盐（见N^2,N^2-二甲基鸟苷，Ⅱ-4(1)-0022）溶于100mL水，5℃搅拌下加10.4g(94.8mmol) 30%过氧化氢，1小时后加180mL30%甲胺水溶液，压热器中120℃保温2小时，减压浓缩，固体在水中重结晶得6.2g(62.4%)浅黄色针状结晶。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

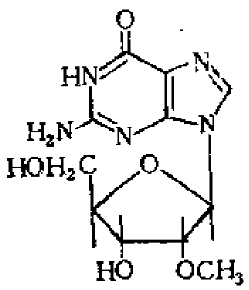
[1] Gerster, J. F. and Robins, R. K.: *J. Org. Chem.*, 31, 3258(1966).

[2] Yamazaki, A. et al.: *J. Org. Chem.*, 32, 3032(1967).

2′-O-甲基鸟苷 Ⅱ-4(1)-0046

2′-*O*-Methylguanosine

结构式

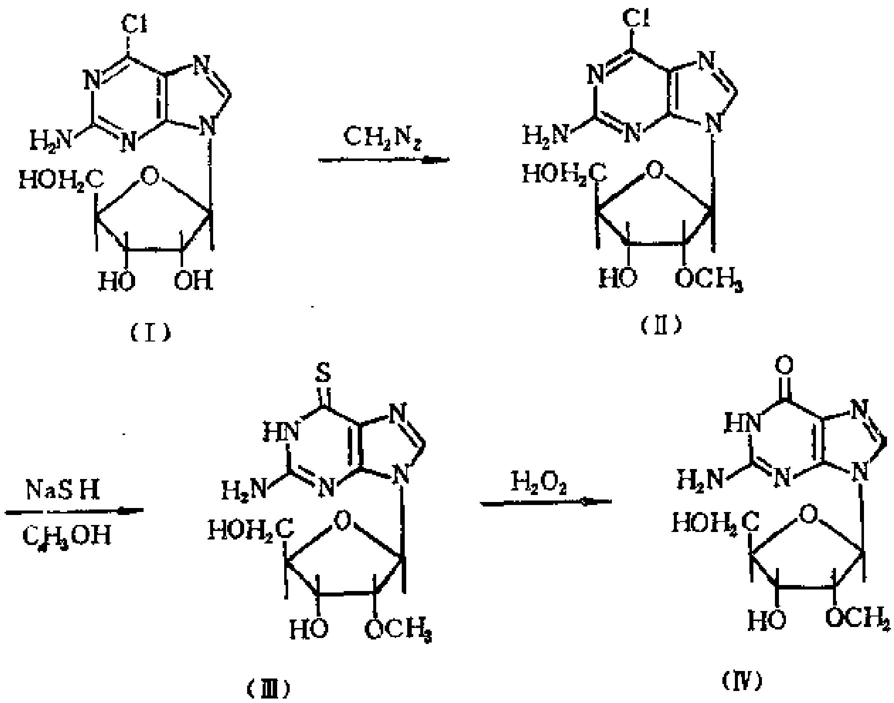


分子式 $C_{11}H_{15}N_5O_5$ **分子量** 297.27

理化参数 熔点218 220℃。$[\alpha]_D^{22}$ −38.4°(C=0.6，水)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$
1	256	10.7
11	258	9.8

制备方法[1]



5.97g 2-氨基-6-氯嘌呤核苷（Ⅰ）溶于165mL热水中，加含720mmol重氮甲烷(从120g N-亚硝基甲脲制备）的900mL1,2-二甲氧乙烷，搅拌，室温放置4小时后，<40℃浓缩干，加乙醇再抽干1次，得6.5g灰色玻璃状物（Ⅱ）。将(Ⅱ)浮悬于100mL 用硫化氢饱和的无水甲醇中，用43.5mL1mol/L硫氢化钠的甲醇溶液在85℃压力瓶中处理，1小时后冷至室温，抽干，残留物溶于40mL热水，过滤，滤液用乙酸中和，冷后过夜过滤，粗产物于20mL热水中重结晶，将黄色的结晶物溶于热水，通过100g氧化铝柱（Alumina column)，吸附后用乙醇-正丙酮-水（4:1:2）洗脱，收集鉴定为2′-O-甲基-2-氨基-6-硫代嘌呤核苷（Ⅲ）的组

分，共3.58g（57.1%），水中重结晶得银白色结晶。熔点234℃。将314mg(Ⅱ)溶于5mL 20%氨水中，冷却，加0.8mL30%过氧化氢，室温放置4小时，抽干，用氧化铝柱层析纯化，将洗脱液抽干，在无水甲醇中重结晶得150mg2′-*O*-甲基鸟苷（Ⅳ）。

贮存 0℃以下。

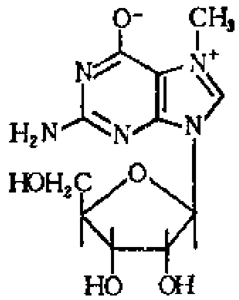
参 考 文 献

〔1〕 Khwaja, T. A. and Robins, R. K.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 88, 3640(1966).

7-甲基鸟苷 Ⅱ-4(1)-0047

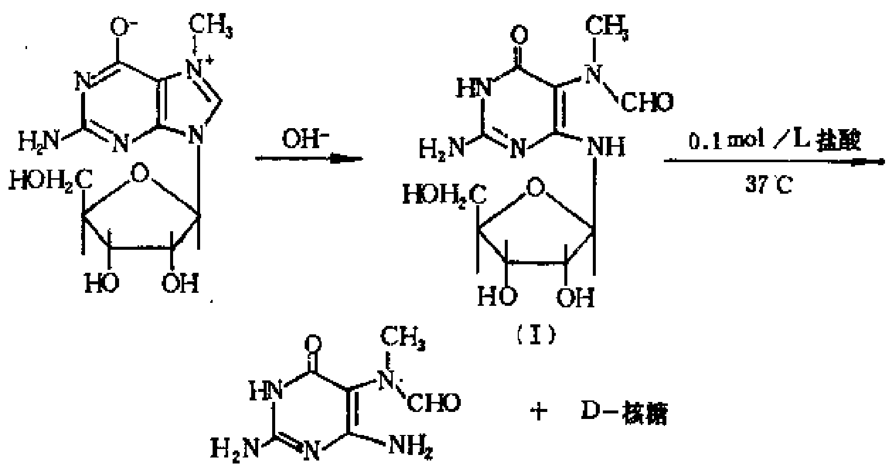
7-Methylguanosine

结构式



分子式 $C_{11}H_{15}N_5O_5$ **分子量** 297.27

理化性质 在水、甲醇或1mol/L硫酸中，100℃1小时水解为7-甲基鸟嘌呤和D-核糖。在中性和碱性pH下，开环产生得到5-*N*-甲基甲酰胺-6-核糖基氨基异胞嘧啶（Ⅰ），酸处理得到断链产物6-氨基-5-*N*-甲基甲酰胺异胞嘧啶（Ⅱ）和D-核糖：



（Ⅱ）

理化参数 含$1^1/_2$分子水的熔点165℃。$[\alpha]_D^{27}$ −33.5°（*C*=0.4，水）。p*K*7.1（酸性基团）。

紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
3	257	10.7	230	0.88	0.68	0.53
7	258 281	8.5 7.4	238	0.89	1.04	0.90
9	282	8.0	242	0.90	1.46	1.30

制备方法[1]

一、10g含2分子结晶水的鸟苷在含10g碘甲烷的100mLN,N-二甲基乙酰胺中搅拌30小时，温度保持30℃。加助滤剂过滤，滤液加500mL乙醇，用石油醚（熔点65°～110℃）稀释至1200mL，得油状物，用300mL丙酮处理，产生白色固体，将浮悬液搅拌5分钟，过滤，用丙酮、乙醚分别洗沉淀，干燥得到8g 7-甲基鸟苷的碘盐。溶于70mL水，冷至10℃，加浓氨水调pH9.5，加700mL丙酮，用浓氨水调pH9，过滤，用丙酮、乙醚洗沉淀得熔点为160°～161℃的7-甲基鸟苷。

二、20g含2分子结晶水的鸟苷加200mL含15g硫酸二甲酯的N,N-二甲基乙酰胺，于25°～28℃搅拌6小时，加助滤剂过滤，将无色滤液冷至15°～20℃，用氨水小心调pH至8，加600mL丙酮，15°～20℃放置2小时，过滤，沉淀用无水乙醇洗，白色沉淀用乙醚搅拌分散，过滤，乙醚洗，干燥，得熔点159°～160℃的7-甲基鸟苷18.5g。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

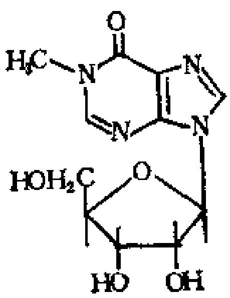
〔1〕 Jones, J. W. and Robins, R. K.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 85, 193(1963).

1-甲基肌苷 　　Ⅱ-4(1)-0048

1-Methylinosine

别名 1-甲基次黄嘌呤核苷 1-Methylhypoxanthine riboside

结构式



分子式 $C_{11}H_{14}N_4O_5$ 　　**分子量** 282.25

理化参数 熔点210～212℃。$[\alpha]_D^{23}$ −49.2°(C=0.5，水)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
2	250	10.4	223	1.42	0.23	0.03
6	249	10.4	223	1.69	0.40	0.07
12	249	10.7		1.60	0.35	0.07

制备方法[1]　5g肌苷加入含3g碳酸钾的50mLN,N-二甲基乙酰胺中，于80℃加热，滴加3.5g对-甲苯磺酸甲酯，100℃搅拌2小时，加助滤剂过滤，滤液加丙酮至250mL，收集沉淀，用丙酮洗，溶于300mL甲醇，用对甲苯磺酸的甲醇溶液中和至pH7，室温放置15小时，滤去结晶的甲苯磺酸钾，滤液15℃放置48小时，过滤，滤液于80℃旋转蒸发，残余物浮悬于75mL异丙醇中，加甲醇溶解，过滤，滤液于15℃结晶，得2g白色产物。在乙醇中重结晶。
贮存　0℃以下。

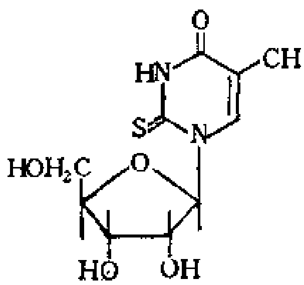
参 考 文 献

〔1〕 Jones, J. W. and Robins, R. K.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 85,193(1963).

5-甲基-2-硫代尿苷　　Ⅱ-4(1)-0049

5-Methyl-2-thiouridine

别名　2-硫代-1-核糖基胸腺嘧啶　2-Thio-1-ribosylthymine
结构式

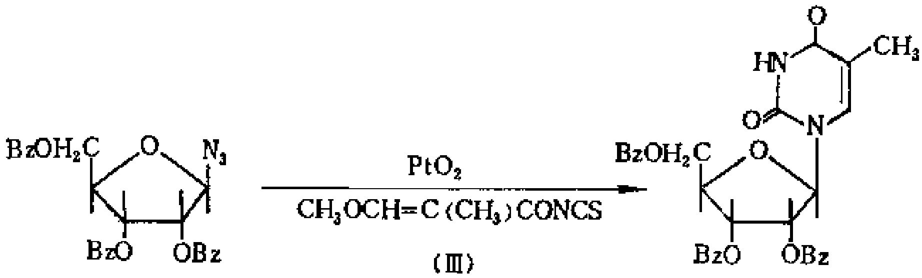


分子式　$C_{10}H_{14}N_2C_5S$　　**分子量**　274.30
理化参数　熔点217℃。$[\alpha]_D^{25}$ +31°(C=1.23，水)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{230}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{250}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
2	218 273	17.4 14.8	243	0.58	1.43	1.22
7	219	16.2	247	0.69	1.39	1.15
9	239	21.0	259	1.20	1.04	0.80

制备方法[1]　3g 2,3,5-O-三苯甲酰基-β-D-核糖基叠氮化物（Ⅰ）溶于300mL乙酸乙酯，用0.3g氧化铂还原，过滤，加0.9g β-甲氧基-α-甲基丙烯酰异硫氰酸（Ⅱ）和3mL三

乙胺回流1.5小时，冷却，用1mol/L盐酸和水洗涤后，干燥，抽干，用无水甲醇处理得1.61 g2′,3′,5′-*O*-三苯甲酰基-5-甲基-2-硫代尿苷(Ⅱ)，甲醇中重结晶得针状结晶，熔点156～157℃。



(Ⅰ)　　(Ⅱ)

(Bz苯甲酰基)

将2.7g(Ⅱ)溶于30mL二氧六环，用23mL 2mol/L氢氧化钠和6mL水处理24小时，用23mL 2mol/L盐酸中和，减压蒸馏，加50mL水，乙醚抽提除去苯甲酸，水相浓缩至15mL，乙酸乙酯抽提，冷却得0.45g 5-甲基-2-硫代尿苷。

贮存　0℃以下。

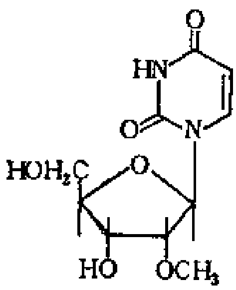
参考文献

[1] Shaw, G. et al.; *J. Chem. Soc.*, 2294(1958).

2′-*O*-甲基尿苷　　Ⅱ-4(1)-0050

2′-*O*-Methyluridine

结构式



分子式　$C_{10}H_{14}N_2O_6$　　**分子量**　258.23

理化参数　熔点159℃。$[\alpha]_D^{25}+41°$(C=1.6，水)。pK～9.3（酸性基团）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
2	263	10.0	231	0.75	0.38	0.04
7	263	10.1	231	0.75	0.38	0.04
12	262	7.4	243	0.83	0.30	0.03

制备方法[1]　0.80g亚硝酸钾加进2mL含0.20g 2′-*O*-甲基胞苷（Ⅱ-4(1)-0039）的25%乙酸

中，于20℃放置5小时，用固体碳酸氢钠中和，氯仿连续抽提18小时，无水硫酸镁干燥，抽干，油状物溶于乙酸乙酯，制得无色结晶0.13g(65%)2′-*O*-甲基尿苷。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

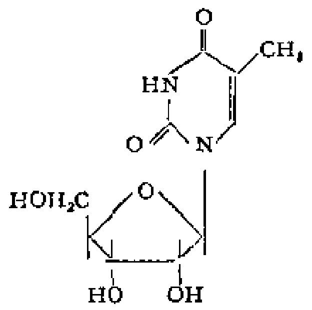
〔1〕 Martin, D. M. G. et al.: *Biochemistry*, 7, 1406(1968).

5-甲基尿苷 Ⅱ-4(1)-0051

5-Methyluridine

别名 核糖基胸腺嘧啶 Ribosylthymine；1-β-D-呋喃核糖基胸腺嘧啶 1-β-D-Ribofuranosylthymine

结构式

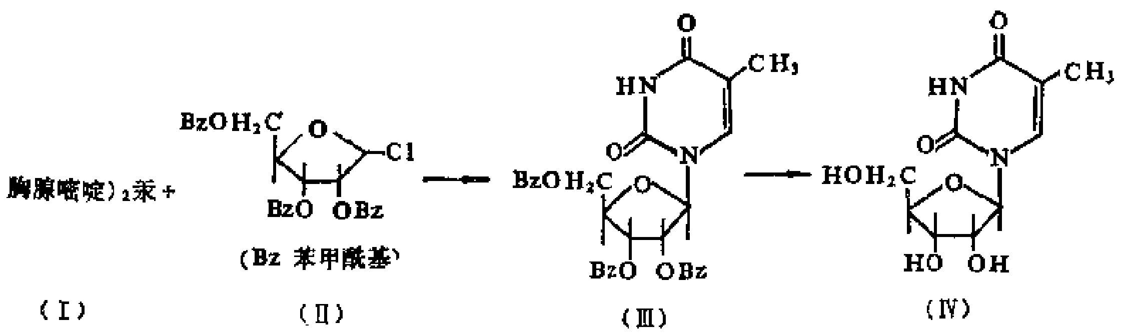


分子式 $C_{10}H_{14}N_2O_6$ **分子量** 258.23

理化参数 熔点183～185℃。$[\alpha]_D^{25}$ - 10°(*C*=2.0，水)。p*K*9.7（酸性基团）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1.7	267	9.9	235	0.67	0.74	0.27
13	268	7.5	246	0.83	0.75	0.31

制备方法[1]



由二胸腺嘧啶汞(Ⅰ)与2,3,5-*O*-三苯甲酰核糖基氯(Ⅱ)制备1-(2′,3′,5′-*O*-三苯甲酰-β-D-呋喃核糖基)-胸腺嘧啶(Ⅲ)。2g(Ⅲ)加70mL于0℃饱和的醇氨溶液，封管100℃过夜，浓缩，加水反复蒸馏除去苯甲酸乙酯，溶于水，乙醚抽提除去苯甲酰胺，将余留物抽干，用

乙醇处理反复浓缩数次至出现沉淀，过滤，得5-甲基尿苷（Ⅳ）。

贮存　0～5℃下贮存。

参 考 文 献

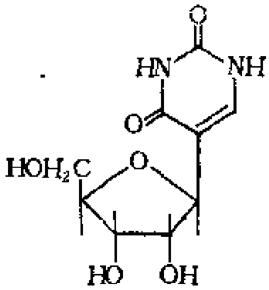
〔1〕 Fox, J. J. et al.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 78,2117(1956).

假 尿 苷　　Ⅲ-4(1)-0052

Pseudouridine

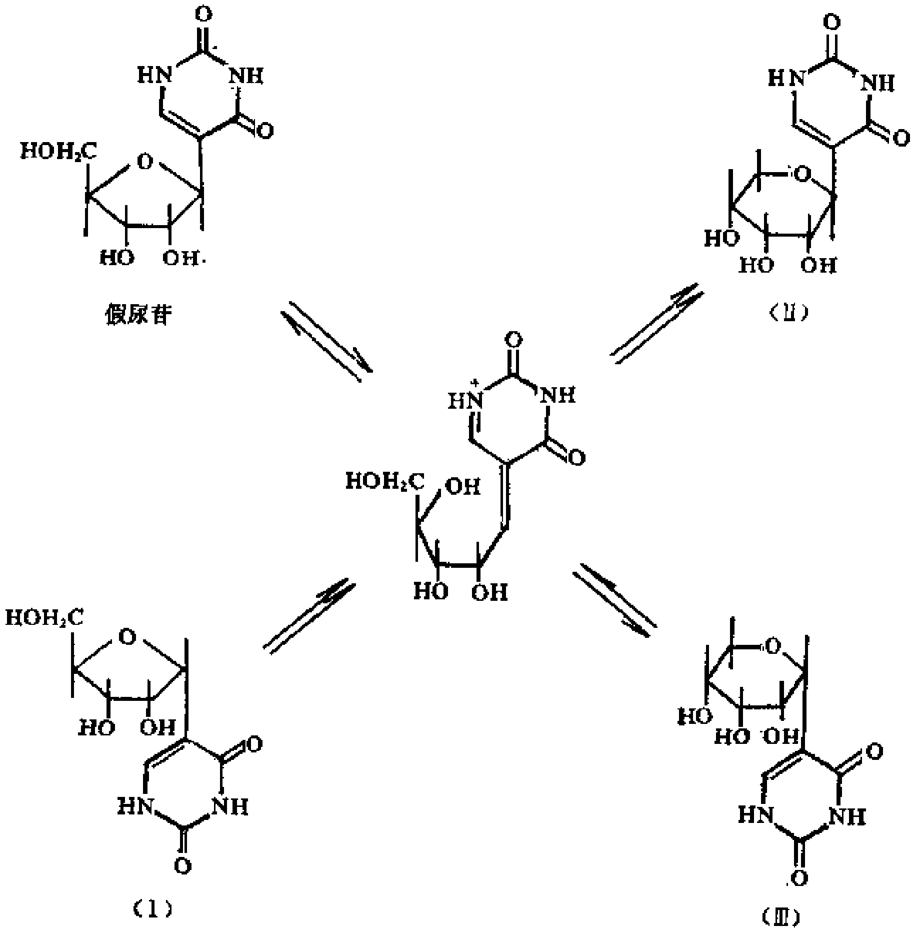
别名　假尿苷C Pseudouridine C；5-核糖基尿嘧啶　5-Ribosyluracil；5-(β-D-呋喃核糖基) 尿嘧啶　5-(β-D-Ribofuranosyl)uracil

结构式



分子式　$C_9H_{12}N_2O_6$　　**分子量**　244.20

理化性质[1]　在酸性条件下，部分转变为其它三种不同异构式，即α-D-呋喃型（Ⅰ）、β-



D-吡喃型(Ⅰ)和α-D-吡喃型(Ⅱ)。

理化参数 熔点223～224℃。[α]$_D$-3.0(C=1.0，水)。pK9.0，>13(酸性基团)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\epsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1～7	262	7.9	7.7	232	0.74	0.42	0.07
12	287	7.96	3.4	245	0.62	2.06	2.16
14	279	5.7		248	0.81	2.09	1.51

制备方法[2,3] 将约9L人尿通过 8.5cm（直径）×40cm（高）的氢型阳离子交换树脂柱，用1～2 倍柱体积的水洗柱，合并流出液和水洗液，得强酸性溶液，迅速通过8.5cm（直径）×40cm（高）的氢氧型阴离子交换树脂柱，水洗至A_{260}～1，合并中性的流出液和水洗液。总A_{260}约为10^5。于合并液加固体$K_2B_4O_7$或$Na_2B_4O_7$至0.005mol/L，用氨水调至pH10，通过4cm（直径）×15cm（高）的碳酸氢型阴离子交换树脂（200 400目）柱，流速10mL/min，用0.02mol/L $K_2B_4O_7$和0.02mol/L碳酸氢铵（加氨水调至pH9）洗涤，除去非假尿苷化合物（用pH12～pH14时光谱比值鉴定），最后用0.1mol/L碳酸氢铵将假尿苷洗脱，流速15 mL/min。假尿苷溶液用活性炭浓缩去盐脱色，于95%乙醇中重结晶。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

〔1〕 Cohn, W. E.: *Progress in Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* (*Academic Press*), 5,349(1966).

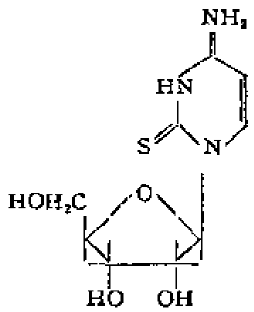
〔2〕 Cohn, W. E.: *Biochemical Preparations.*, 10,135(1963).

〔3〕 Cohn, W. E.: *Methods in Enzymology.*, 12A, 101(1967).

2-硫代胞苷　　Ⅱ-4(1)-0053

2-Thiocytidine

结构式



分子式 $C_9H_{13}N_3O_4S$　　**分子量** 259.28

理化参数 熔点208～209℃。$[\alpha]_D^{25}$+64.2°(C=1.8，水)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
0	229 276	17.0 17.4	213 250	0.86	1.30	1.11
7	249	22.3	220	1.08	0.50	0.42
13	252		229	1.04	0.72	0.39

制备方法[1] 2.6g 2-巯基胞嘧啶（从2,4-二巯基嘧啶制备）用乙酸酐处理得 2.8g（13 mmol）乙酰-4-乙酰氨基-2-巯基嘧啶（熔点237～239℃），制备上述产物的*N*-1汞盐方法见2-巯代尿苷（Ⅱ-4(1)-0054）制备法。2.5g汞盐（相当于9.2mmol 2-巯基胞嘧啶）用10mmol三苯甲酰呋喃核糖基氯和溴化汞处理制得2g 2′,3′,5′-*O*-三苯甲酰-4-乙酰-2-硫代胞苷。用1mol/L氢氧化钠的50%乙醇在100℃水解30分钟，通过阳树脂柱层析除去钠离子，用乙醇结晶得750mg 2-硫代胞苷。

贮存 0℃以下。

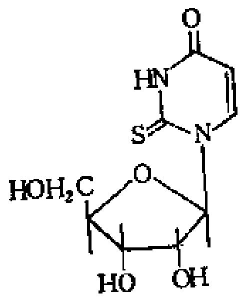
参考文献

〔1〕 Lee, H. J. and Wigler, P. W.: *Biochemistry*., 7, 1427(1968).

2-硫代尿苷　　Ⅱ-4(1)-0054

2-thiouridine

结构式



分子式 $C_9H_{12}N_2O_5S$　　**分子量** 260.26

理化参数 熔点214℃。$[\alpha]_D^{21}+39°$（C=1.2，水）。p*K*8.2（酸性基团）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
2	279	16.4	247	0.53	1.86	1.66
7	218 275	16.2 13.6	247	0.62	1.67	1.40
12	239 271	21.0 13.4				

制备方法[1] 6.4g 2-巯基尿嘧啶和10mL吡啶在200mL无水乙酸酐中回流6小时，浓缩，4℃结晶，四氯化碳洗，得6.2g乙酰-2-巯基尿嘧啶。将5.1g（30mmol）乙酰-2-巯基尿

嘧啶溶于30mL 1mol/L氢氧化钠的无水乙醇中，搅拌下缓慢加入含15mmol氯化汞的150mL乙醇溶液，80℃放置5分钟，冷至4℃结晶，用水、乙醇洗，干燥，得5.6g与N-1反应的汞盐。将4.8g上述汞盐（相当于21mmol的2-巯基尿嘧啶）悬浮于300mL热二甲苯中，缓慢加入22mmol 2′,3′,5′-*O*-三苯甲酰-D-呋喃核糖基氯的苯溶液，回流30分钟，冷却至100℃，加2.3g溴化汞再回流120分钟，冷至室温，放置16小时，过滤，滤液浓缩，用石油醚处理，于4℃结晶，结晶溶于氯仿，用30%碘化钾的水溶液抽提，氯仿相用无水硫酸钠干燥，浓缩，用乙酸乙酯和石油醚结晶，得5.2g 2′,3′,5′-*O*-三苯甲酰-2-硫代尿苷（熔点147～149℃），溶于100mL 1mol/L氢氧化钠的50%乙醇中，回流1小时，用乙酸中和，减压浓缩，溶于水，氢型阳离子交换树脂处理，乙醚抽提，水相浓缩，乙醇中结晶得1.85g 2-硫代尿苷。

另外，用叠氮核糖化合物与β-乙氧基丙酰酰异硫氰酸反应〔参考5-甲基-2-硫代尿苷（Ⅱ-4(1)-0049)制备方法〕也可制得2-硫代尿苷[2]。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

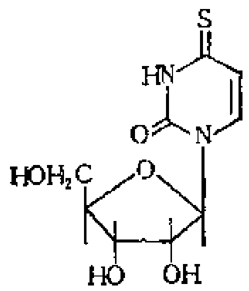
〔1〕 Lee, H, J. and Wigler, P. W.: *Biochemistry*., 7,1427(1968).

〔2〕 Shaw, G. et al.: *J. Chem. Soc*., 2294(1958).

4-硫代尿苷 Ⅱ-4(1)-0055

4-Thiouridine

结构式

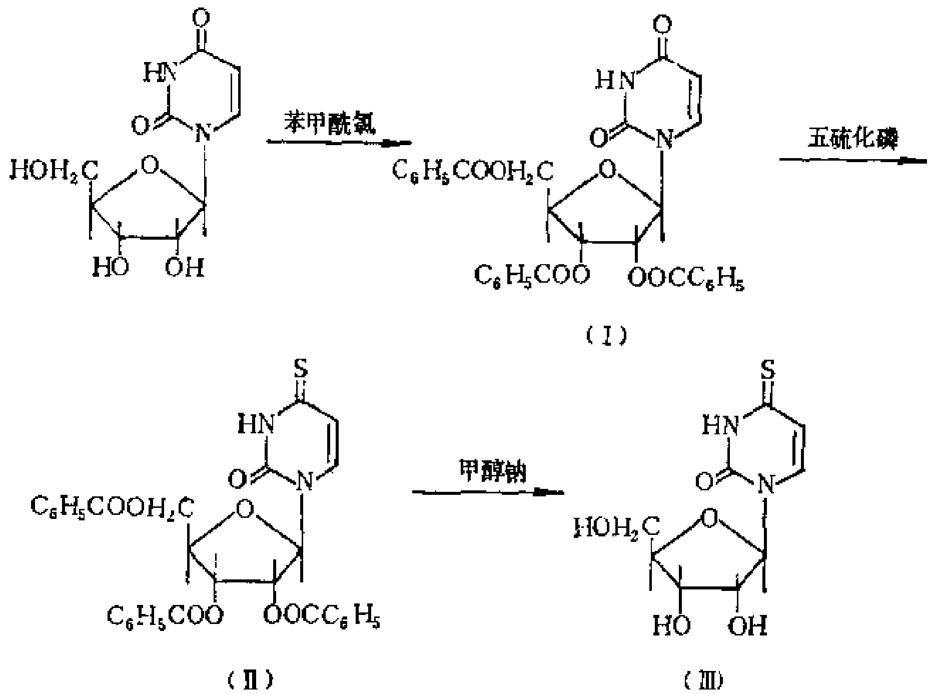


分子式 $C_9H_{12}N_2O_5S$ **分子量** 260.26

理化参数 熔点135～138℃（分解）。p*K*8.2（酸性基团）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm
2	245 331	5.2 17.0	275
6.5	245 331	4.0 21.2	225 274
12	316	19.7	268

制备方法[1]



于80.5g(0.33mol)尿苷的2300mL无水吡啶中搅拌滴加128mL(1.10mol)苯甲酰氯，55～60℃放置48小时，减压浓缩约一半体积，滤去氯化吡啶，滤液加入激烈搅拌的冰块水中，搅拌1小时，分开沉淀与油状物，油状物用新的冰块水处理，又得固体(二次共153g)，余下油状物溶于氯仿，水洗，硫酸钠干燥，除去氯仿，得到固体。合并上述所有固体，于约1L热苯中重结晶，冷却，过滤，干燥得162g(92%)1-(2,3,5-*O*-三苯甲酰-*β*-D-呋喃核糖基)-尿嘧啶(Ⅰ)，熔点142～143℃。

5.56g(Ⅰ)加8.88g五硫化磷和150mL无水吡啶，搅拌回流5小时，蒸去三分之一吡啶，倾入搅拌的水中，得油状物，溶于氯仿，滤去不溶物，水洗2次，硫酸钠干燥，过滤，将滤液减压抽干，溶于150mL热乙醇中，冷至室温，得4.96g(87%)1-(2,3,5-*O*-三苯甲酰-*β*-D-呋喃核糖基)-4-硫代尿嘧啶(Ⅱ)黄色棱晶，熔点128～130℃。

11.44g(0.02mol)Ⅱ溶于500mL无水甲醇中，温热滴加25mL 1mol/L甲醇钠的甲醇溶液，回流4小时，pH保持8，加几滴冰乙酸调pH5，减压抽干，加水，用氯仿抽提几次除去苯甲酸甲酯等，活性炭处理，将水溶液减压抽干，黄色残渣用丙酮抽提3次(每次25mL)，合并丙酮抽提液，浓缩至干，得3.9g(75%)4-硫代尿苷。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

〔1〕 Fox, J. J. et al.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 81, 178(1959).

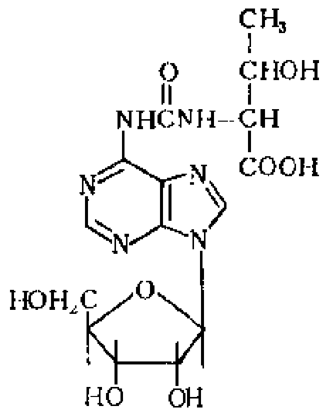
*N*⁶-苏氨酸羰基腺苷 Ⅱ-4(1)-0056

N^6-Threonineocarbonyladenosine

别名 *N*-〔(9-*β*-D-呋喃核糖基嘌呤-6-)氨甲酰〕-L-苏氨酸 *N*-〔(9-*β*-D-Ribofuran-

osylpurin-6-yl)carbamoyl]-L-threonine; *N*-(水粉蕈素-6-氨甲酰)-L-苏氨酸*N*-(Nebularin-6-ylcarbamoyl)-L-threonine

结构式



分子式 $C_{15}H_{20}N_6O_8$　　**分子量** 412.36

理化参数 熔点 204～206℃。$[\alpha]_D^{25}$－13.9°(C＝1.0，二甲亚砜)。pK<2（碱性基团)；～3.0（酸性基团)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1.6	277	21.6	238	0.57	1.51	0.56
6.5	269 276	22.9 19.4	231	0.59	0.93	0.00
12.4	270 277 299	16.3 16.0 11.1	236	0.59	1.16	0.42

制备方法[1]　930mg (2mmol) 9-(2,3,5-*O*-三乙酰基-β-D-呋喃核糖基)-嘌呤-6-氨甲酰乙酯（见Ⅱ-4(1)-0024N^6-甘氨酸羰基腺苷制备方法）和476mg(4mmol) L-苏氨酸的30mL吡啶封管100℃加热5小时，移至室温，滤去不溶的苏氨酸，加100mL 45mol/L甲醇氨，室温放置20小时，抽干，油状物溶于热乙醇，用100mL乙酸乙酯稀释，放4℃数小时，得白色粉末，过滤，用乙酸乙酯（30mL）和乙腈（20mL）洗，得31.5mg，母液回收再得59mg，共374mg(45.4%)N^6-苏氨酸羰基腺苷，用乙醇-石油醚（1:3）和乙腈2次重结晶，可得分析纯样品。

贮存　0℃以下。

参 考 文 献

〔1〕 Chheda, G. B. and Hong, C. I.; *J. Med. Chem.*, 14,748(1971).

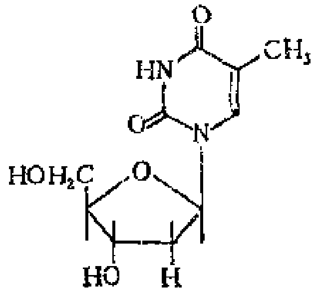
脱 氧 胸 苷　　Ⅱ-4(1)-0057

Thymidine

别名　胸苷；胸腺嘧啶脱氧核苷 Thymine deoxyriboside；5-甲基脱氧尿苷 5-Methyldeo-

xyuridine；1-β-D-2′-呋喃脱氧核苷胸腺嘧啶　1-β-D-2′-Deoxyribofuranosidothymine

结构式



分子式　$C_{10}H_{14}N_2O_5$　　**分子量**　242.23

理化参数　熔点　183～184℃。$[\alpha]_D^{25}$+32.8°（C=1.04，1mol/L 氢氧化钠）。pK 9.8>13（酸性基团）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\epsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1,7	267	9.65	8.75	235	0.65	0.72	0.22
13	267	7.4	6.65	246	0.74	0.65	0.16

制备方法[1]　153.5mg(0.5mmol)5-溴脱氧尿苷（见Ⅱ-4(2)-0017）溶于15mL四氢呋喃，用氮气冷至－60℃，搅拌下加入3.1mL(2.2mmol)醚的丁基锂（从氯丁烷制备），得白色沉淀，加71mg(0.5mmol)碘甲烷的5mL乙醚溶液，搅拌20分钟，当温度升至－35℃时，加入过量干冰，继续搅拌使温度升至0℃，将黄色溶液倒入水中，通干空气驱去四氢呋喃，加30mL氢氧化铵（pH11），通过2×10cm的甲酸型阴离子交换树脂柱层析，氢氧化铵、水洗柱后，用0.02mol/L甲酸洗脱脱氧胸苷，冷冻干燥。

脱氧胸苷也可以用小肠粘膜酶解DNA后，用柱层析分离得到[2]（参见Ⅱ-4(1)-0017脱氧鸟苷制备法）。

贮存　室温下保存。

参 考 文 献

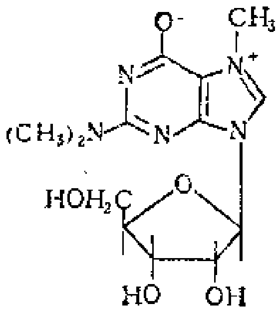
〔1〕 Ulbricht, T. L. V.: *Tetrahedron*, 6, 225(1959).
〔2〕 Andersen, W. et al.: *J. Chem. Soc.*, 2721(1952).

N^2, N^2, 7-三甲基鸟苷　　Ⅱ-4(1)-0058

N^2, N^2, 7-Trimethylguanosine

别名　2-二甲氨基-7-甲基-9-β-D-呋喃核糖基-6-酮基嘌呤　2-Dimethylamino-7-methyl-9-β-D-ribofuranosylpurin-6-one

结构式



分子式　$C_{13}H_{19}N_5O_5$　　分子量　325.33

理化参数　紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1	266 295		240	0.57	0.59	0.49
6	266	10.3	239	0.57	0.63	0.51
10	234 302		280	1.31	0.62	0.73

制备方法[1]　20mg N^2, N^2-二甲基鸟苷（Ⅱ-4 (1)-0022）悬浮于含10μL硫酸二甲酯的400μL二甲基乙酰胺中，室温振摇15小时，离心，用浓氨水调pH8，通过磷酸纤维素柱1×50cm分离纯化，洗脱梯度为pH7的0.001mol/L乙酸铵对pH7的0.3mol/L乙酸铵，收集N^2, N^2, 7-三甲基鸟苷组分，冷冻干燥。

贮存　0℃以下。

参 考 文 献

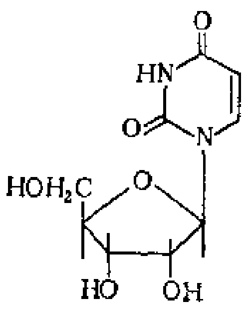
〔1〕 Reddy, R. et al.: *J. Biol. Chem.*, 247, 7245(1972).

尿　苷　　Ⅱ-4(1)-0059

uridine

别名　尿嘧啶核苷Uracil riboside；1-β-D-呋喃核苷尿嘧啶1-β-D-Ribofuranosidouracil

结构式



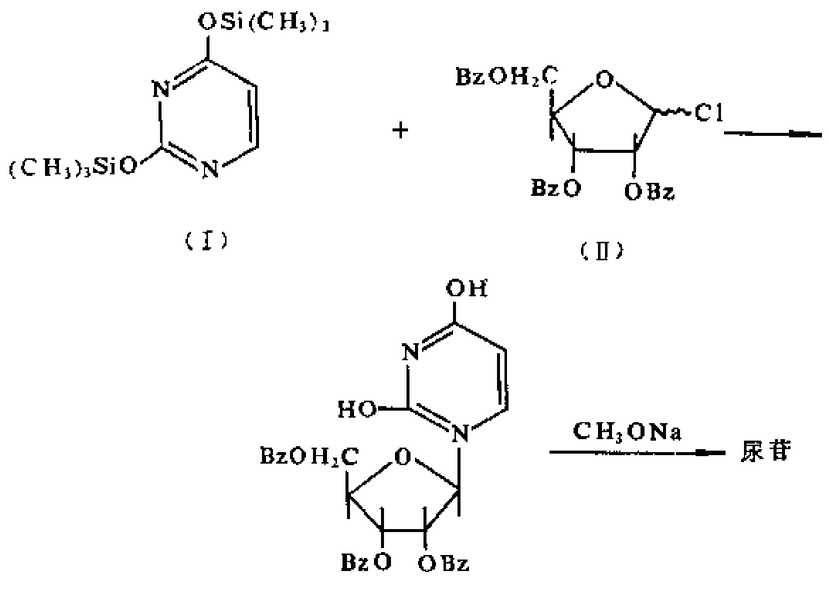
分子式　$C_9H_{12}N_2O_6$　　分子量　244.20

理化性质　自含水乙醇中得到针状结晶。溶于水，微溶于乙醇。

理化参数　熔点165～166℃。$[\alpha]_D^{18}+9.6°$(C=2.0，水)。pK9.2，12.5（酸性基团）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\epsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1～7	262	10.1	9.95	231	0.74	0.35	0.03
11～12	262	7.45	7.35	243	0.83	0.29	0.02

制备方法[1,2]



11.3g尿嘧啶干粉加入21.0g氯三甲硅的100mL无水二氧六环中，于室温搅拌下滴加19.5g三乙胺的二氧六环溶液，搅拌7小时，滤去三乙胺盐酸盐和尿嘧啶，用3×20mL二氧六环洗，抽干，得15.7g双（三甲硅）尿嘧啶(Ⅰ)。将2.56g(Ⅰ)与从5.04g 1-O-乙酰-2，3,5-三-O-苯甲酰基-D-呋喃核糖经干的氯化氢的醚溶液处理制备得到2,3,5-三-O-苯甲酰基-D-呋喃核糖基氯(Ⅱ)于190℃反应40分钟，冷却，加乙醇，减压抽至浆状物，溶于80mL热苯，过滤(不溶物主要为α异构体)，滤液冷却过夜得1.3g 1-(2,3,5-三-O-苯甲酰-D-呋喃核糖基)尿嘧啶(Ⅲ)，（从母液又可回收1.0g Ⅲ，共2.3g，产率58%)熔点144～145℃。将0.56g(Ⅲ)与0.2g甲醇钠的3mL无水甲醇，回流30分钟，冷却，用氢型阳树脂中和，将滤液抽干，于99%乙醇中二次重结晶，得0.21g尿苷。用类似方法制备尿苷也是文献[2]。

贮存　室温下贮存。

参考文献

[1] Nishimura, T. et al.; *Chem. Pharm. Bull.*, 12, 1471(1964).

[2] Wemper, I. and Fox, J. J.; *Methods in Emzymology*., 12A, 59(1967).

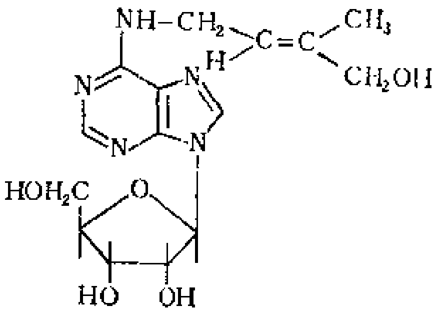
玉 米 苷

Ⅱ-4(1)-0060

Zeatosine

别名 玉米素核苷 Zeatin riboside；核苷基玉米素 Ribosylzeatin；N^6-（反-4-羟基异戊烯）腺苷 N^6-(trans-4-Hydroxyisopentenyl)adenosine；N^6-(反-4-羟基-3-甲基-2-丁烯基）腺苷 N^6-(trans-4-Hydroxy-3-methyl-2-butenyl) adenosine

结构式



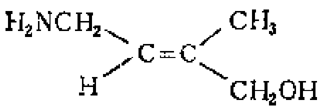
分子式 $C_{15}H_{21}N_5O_5$ **分子量** 351.36

理化参数 熔点180～182℃。紫外吸收数据

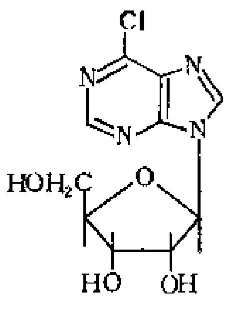
pH	$\lambda_{最大}$nm	$\varepsilon_{最大}\times10^3$	$\lambda_{最小}$nm
1	208 266	19.8 18.5	235
7	211 270	19.3 17.8	233
11	215 270	18.1 18.3	235

制备方法[1] 0.085g 反-4-氨基-2-甲基-2-丁烯-1-醇（Ⅰ）硫酸盐（参阅 Ⅱ-4(2)-0001制备）、0.143g 6-氯-9-β-D-呋喃核糖基嘌呤（Ⅱ）、0.25mL三乙胺和4mL正丁醇，回流1小时，减压浓缩至一半体积，冷却，甲醇中重结晶得 0.08g 9-β-D-呋喃核糖基玉米素（玉米苷），母液又得0.04g。

贮存 0℃以下。



（Ⅰ）



（Ⅱ）

参 考 文 献

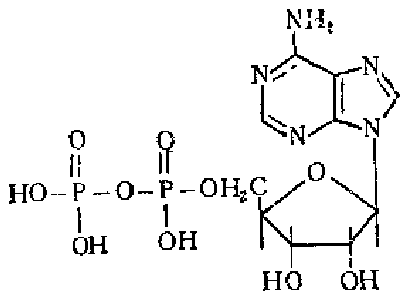
〔1〕 Shaw, G. et al.; *J. Chem. Soc.* (C), 921(1966).

腺苷-5′-二磷酸　　Ⅱ-4(1)-0061

Adenosine 5′-diphosphate

别名　腺苷二磷酸；腺二磷；二磷酸腺苷；5′-ADP；ADP

结构式



分子式　$C_{10}H_{15}N_5O_{10}P_2$　　**分子量**　427.21

理化性质　1mol/L 盐酸中，100℃ 10 分钟释放末端磷酸残基；60℃ 分解则得腺嘌呤、核糖-5-磷酸、核糖和无机磷。钡盐分子式为$Ba_3(ADP)_2\cdot 8H_2O$（分子量1404.52）；钠盐为$NaH_2ADP\cdot 2H_2O$（分子量485.24）。盐中的水分子数不同，报道有所不同。

理化参数　pK3.9（碱性基团），<1，6.1～6.7（磷酸根）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\epsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}\times10^{-3}$	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$
2	257	15.0	14.5	230	0.85	0.21
7,11	259	15.4	15.4	227	0.78	0.16

制备方法[1,2]　1.1g（3mmol）5′-AMP（含一分子水）溶于7.5mL 2mol/L氨水和5mL甲酰胺中，加3.09g（15mmol）二环已基碳二亚胺的20mL叔丁醇，封管80℃加热2～3小时，得到均匀相后继续加热7小时，室温过夜，滤去二环已基脲，水洗，合并滤液和洗液，浓缩除去叔丁醇，乙醚抽提除去甲酰胺，减压浓缩，滴加丙酮结晶，得1.43g（87%）5′-腺苷磷酰胺，熔点239～241℃。100mg上述产物的二环已基胍盐，用五氧化二磷干燥过夜，与新鲜制备的、用五氧化二磷干燥三天的300mg二氧六环二磷酸溶于3mL邻氯酚，冷至0℃，迅速搅拌3小时，加8mL石油醚，离心，乙醚洗涤，将白色粉末溶于4mL 1mol/L氨水，加水稀释至10.0mL，通过氯型的强阴离子交换树脂1×6cm柱层析分离，水、0.003mol/L盐酸和0.015mol/L氯化锂洗柱后，用0.003mol/L盐酸和0.03mol/L氯化锂洗脱得38mg（83%）的ADP锂盐。

贮存　0℃以下。

参 考 文 献

〔1〕 Chambers, R. W. and Moffatt, J. G.; *J. Amer. Chem. Soc.*, 80,3752(1958).

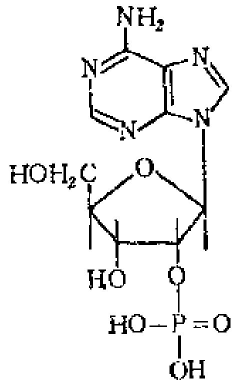
〔2〕 Chambers, R. W. et al.; *J. Amer Chem. Soc.*, 82,970(1960).

腺苷-2′-磷酸 Ⅱ-4(1)-0062

Adenosine 2′-phosphate

别名 腺苷酸 a Adenylic acid a；2′-AMP

结构式



分子式 $C_{10}H_{14}N_5O_7P$ **分子量** 347.22

理化性质 含 $1\frac{1}{2}$分子水的结晶（分子量364.24）。

理化参数 熔点183℃（分解）。$[\alpha]_D^{23}$ −65.4°（C=0.5，0.5mol/L磷酸二氢钠）。pK3.8（碱性基团）；<1，6.2（磷酸根）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
2	257	14.4	229	0.85	0.23	0.04
7.12	259	15.4		0.80	0.15	0.01

制备方法[1] 分二步进行，第一步分离 2′-和3′-AMP 的混合物，第二步拆分 2′-AMP 和 3′-AMP。

1．2′-和3′-AMP混合物的分离 将RNA溶于0.3mol/L氢氧化钠或氢氧化钾37℃保温过夜，用氢型阳离子交换树脂调pH5，过滤，水洗，合并滤液和洗液，用氨水调pH8以上，稀释使阴离子（包括核苷酸）浓度约为0.01mol/L，用氯型强阴离子交换树脂（200—400目，8—10%交链度）分离，每克RNA水解物需用20mL树脂，柱高不低于10cm，流速0.3～3mL/cm²/min，上柱后，用10倍柱体积（CV）水和10～20CV 0.001mol/L氯化铵洗至pH<7，用150CV 0.002mol/L盐酸洗脱2′-和3′-CMP以及2′-和3–′AMP，然后用100CV 0.005mol/L盐酸洗脱2′-和3′-UMP以及2′-和3′-GMP。也可在2′-和3′-UMP洗出后改用70CV 0.0075mol/L盐酸洗脱2′-和3′-GMP，以减少洗脱体积和缩短洗脱时间。所有核苷酸分离情况均可用紫外吸收光谱鉴定。将每个组分分别合并，用氢氧化铵调pH9～10，用小的强阴离子交换树脂柱浓缩，每克核苷酸用8mL树脂，柱高不超过5cm，流速2～4mL/cm²/min。用2CV水和10～20CV 0.01mol/L氯化铵洗柱后，小体积0.1mol/L盐酸洗脱，迅速中和，用钡盐沉淀或直接用于异构体的拆分。

2. 2′-AMP和3′-AMP的拆分 氯型强阴离子交换树脂柱制备同上，每mL树脂可分离2mg核苷酸混合物，上样液离子浓度不大于0.01mol/L，pH8～10，流速小于3mL/cm²/min。上柱后，用2CV水和足够量0.01mol/L氯化铵（需10～20CV）洗至pH<7，0.02mol/L盐酸洗脱可得二个紫外吸收峰，2′-AMP约于70CV时洗下，120CV时洗出3′-AMP(Ⅱ-4(1)-0063)。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

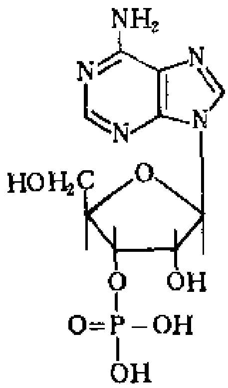
〔1〕 Cohn, W. E. and Khym, J. X.: *Biochemical Preparations.*, 5, 40(1957)。

腺苷-3′-磷酸 Ⅱ-4(1)-0063

Adenosine 3′-Phosphate

别名 腺苷酸b Adenylic acid b；酵母腺苷酸Yeast adenylic acid；3′-AMP

结构式



分子式 $C_{10}H_{14}N_5O_7P$ **分子量** 347.22

理化性质 含$1\frac{1}{2}$分子水的结晶（分子量365.24）。

理化参数 熔点195℃（分解）。$[\alpha]_D^{23}-45.4°$(C=0.5，0.5mol/L磷酸二氢钠)。pK3.6^5（碱性基团）；<1，5.9（磷酸根）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\epsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{350}}$
1	257	15.1	14.5	230	0.85	0.22	0.04
7					0.80	0.15	0.01
13	259	15.4	15.3	227	0.78	0.22	0.05

制备方法

一[1]、同腺苷-2′-磷酸（Ⅱ-5(1)-0062）制备方法。

二[2]、用3′-核糖核酸酶代替碱水解RNA，经强阴离子交换树脂柱分离可直接得到3′-AMP。

贮存　0℃以下。

参 考 文 献

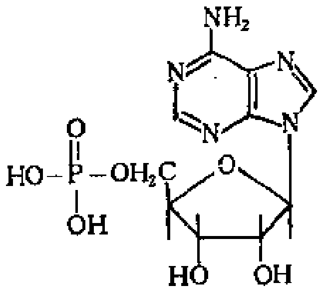
〔1〕 Cohn, W. E. and Khym, J. X.: *Biochemical Preparations.*, 5, 40(1957).
〔2〕 中国科学院上海生化所固相酶组：生物化学与生物物理学报，9, 187(1977).

腺苷-5′-磷酸　　Ⅱ-4(1)-0064

Adenosine 5′-Phosphate

别名　腺苷-5′-一磷酸　Adenosine 5′-monophosphate；腺苷酸　Adenylic acid；腺一磷；一磷酸腺苷；肌肉腺苷酸　Muscle adenylic acid；5′-AMP；AMP

结构式

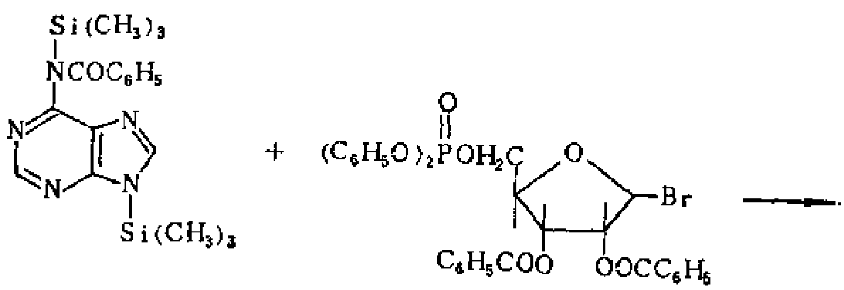


分子式　$C_{10}H_{14}N_5O_7P$　　**分子量**　347.22

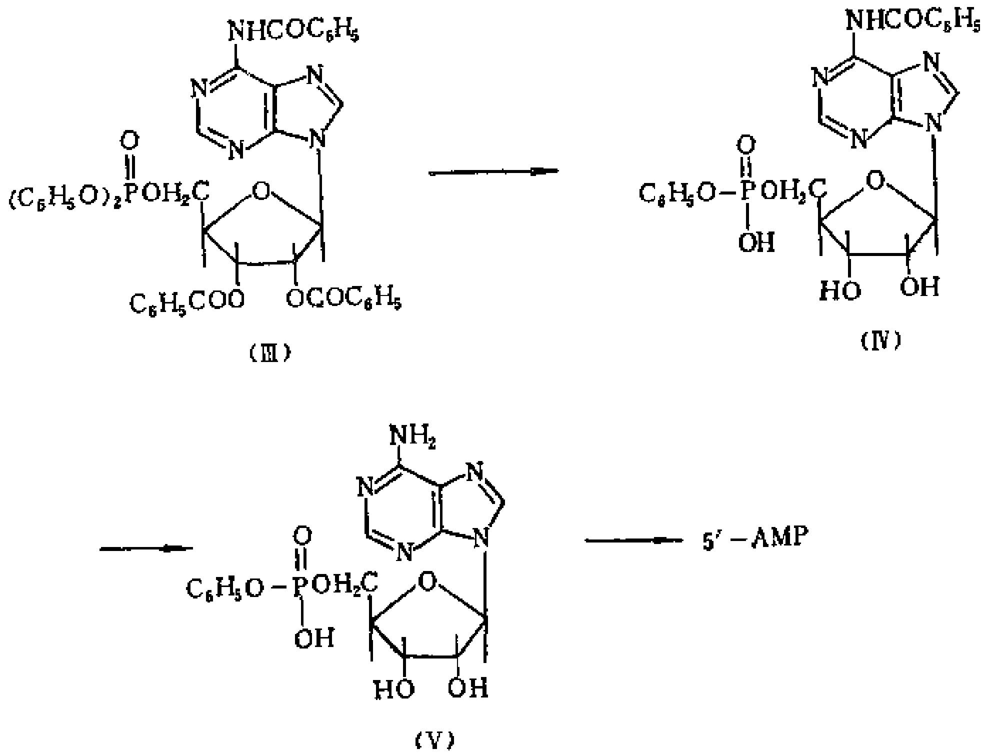
理化性质　自丙酮水溶液中得含2分子水的结晶（分子量 383.25）。溶于热水。1mol/L 盐酸中，100℃ 1小时完全水解成腺嘌呤、核糖-5-磷酸、核糖和无机磷。pK3.8（碱性基团）；<1，6.2～6.4（磷酸根）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\epsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
2	257	15.0	14.5	230	0.84	0.22	0.04
7,12	259	15.4	15.3	227	0.79	0.15	0.01

制备方法[1]



(Ⅰ)　　(Ⅱ)



2g双（三甲硅基）-6-苯甲酰氨嘌呤（Ⅰ）和由3g甲基-5-二苯基磷酰-2,3-*O*-二苯甲酰-D-呋喃核苷制得的相应1-溴衍生物（Ⅱ）溶于70mL无水甲苯，减压抽干，残渣于100～110℃加热50分钟，冷却，溶于热乙醇，减压抽干，溶于80mL热二甲苯，滤去不溶物，氯仿洗3次，将滤液和洗液抽干，溶于小体积苯，冷却，滤去不溶物，滤液通过3.5×30cm硅胶柱，500mL苯洗，然后用氯仿：乙酸乙酯（95～80：5～20）洗脱，收集核苷酸衍生物，减压浓缩，得1.2g(37.6%）6-苯甲酰氨-9-(5-二苯基磷酰-2,3,-*O*-二苯甲酰-β-D-呋喃核糖基）嘌呤（Ⅲ）。将800mg Ⅲ用氢氧化钠水解得到460mg 6-苯甲酰基-9-(5-苯磷酰-β-D-呋喃核糖基）嘌呤（Ⅳ）。152mg Ⅳ用甲醇钠处理得42%的9-(5-苯磷酸-β-D-呋喃核糖基）腺嘌呤（Ⅴ）。最后，将Ⅴ用磷酸二酯酶处理得到5'-AMP。

酶法生产5'-AMP见文献[2]。

贮存　0～5℃保存。

参 考 文 献

[1] Shimizu, B. et al.; *Chem. Pharm. Bull.*, 15, 1847(1967).

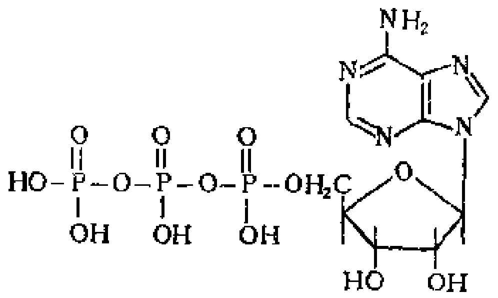
[2] 袁中一等：科学通报，14,654(1980)。

腺苷-5'-三磷酸　　Ⅱ-4(1)-0065

Adenosine 5'-triphosphate

别名　腺三磷，三磷酸腺苷；5'-ATP，ATP

结构式



分子式 $C_{10}H_{16}N_5O_{13}P_3$　　　**分子量** 507.19

理化性质 1mol/L 盐酸中，100℃10 分钟，66%总磷释放为无机磷。中性钠盐和钾盐在 －15℃稳定数月，在 0 ℃为一星期；在7%三氯乙酸中，0 ℃只稳定儿小时。在碱性溶液中，即使 0 ℃也分解为无机焦磷酸和腺苷-5′-磷酸。钡盐有二种：BaH_2·ATP（分子量642.51）和Ba_2·ATP·$4H_2O$（分子量849.91）。钠盐为Na_2H_2·ATP·$3H_2O$（分子量605.22）；钾盐是K_2H_2·ATP（分子量583.37）。双钡盐不溶于水；单钡盐溶于水，为胶状物。盐中的结晶水是可变的。

理化参数 pK4.1（碱性基团）；<1，6.0～6.9（磷酸根）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\varepsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\varepsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
2	257	14.7	14.3	230	0.85	0.22	0.03
7,12	259	15.4	15.4	227	0.80	0.15	0.00

制备方法

一、腺苷-5′-一磷酸与无机磷缩合[1]　0.365g水腺苷-5′-一磷酸（1.0mmol）溶于20mL含5mL（21.0mmol）在蒸三乙胺的无水吡啶，加1.16g(10.0mmol）的85%正磷酸(H_3PO_4·H_2O)，均匀后，加10.3g(50mmol）二环己基碳二亚胺（DCC），于 25℃放置 24 小时，滤去二环己基脲，水洗，合并滤液和洗液，加蒸馏水至100mL，用乙醚（50mL）抽提 3 次，除去未反应的DCC，<30℃减压蒸馏，油状物溶于20mL水，反复蒸馏完全除去吡啶，油状物溶于100mL水，加11g酸处理的活性炭，用助滤剂装柱过滤，1L水洗除去无机磷，用含2%氨水的50%乙醇洗脱（约800mL），<30℃浓缩至25mL（若有少量活性炭，可再加助滤剂过滤或离心），加水至40mL，用1mol/L氢氧化锂调 pH8，用氯型阴离子交换树脂（2.2×7.0cm）柱层析分离纯化，洗脱液为氯化锂梯度的0.003mol/L盐酸溶液，约 0.15mol/L氯化锂的0.003mol/L盐酸洗去ATP，用2mol/L氢氧化锂调pH8，于30～40℃浓缩至约30mL，加等体积甲醇，600mL丙酮沉淀得ATP四锂盐，离心，用含少量甲醇的丙酮洗，乙醚洗，干燥得0.247g(36.5%)产物。

二、腺苷-5′-磷酰吗啉与焦磷酸反应[2]　0.2mmol腺苷-5′-磷酰吗啉的4-吗啉-N,N'-二环己基脒盐和 1.0 mmol 焦磷酸的双（三丁胺）盐用吡啶反复蒸发数次，溶于 6mL 吡啶，2～5 小时（时间延长，ATP产率减低）后减压蒸干，用氯型阴离子交换树脂分离纯化，直线梯度为0.003mol/L盐酸对0.45mol/L氯化锂的0.003mol/L盐酸，收集 ATP组分，用氢氧化锂调pH7.5，蒸发至干，甲醇-丙酮处理得沉淀，甲醇-丙酮洗净氯离子，干燥得ATP

钡盐（含8分子水）28mg(43%)。

三、从AMP酶促反应合成[3] 5mL酶促反应液含15～20μmol AMP（腺苷-5′-磷酸）、67μmol氯化镁、6.4μmol ATP、77.1μmol磷酸肌酸、400μg 肌酸激酶、200μmol pH7.4 Tris缓冲液和1mL大肠杆菌粗酶制剂（见Ⅱ-5(1)-0074)，38℃保温20秒，水稀释后用甲酸型阴离子交换树脂（200～400目）分离纯化，步骤同Ⅱ-5(1)-0074，得到ATP钡盐，可用钠型阳离子交换树脂转变为ATP钠盐。

贮存 0℃以下。

参考文献

〔1〕 Smith, M.; *Biochemical Preparations.*, 8,1(1961).

〔2〕 Moffatt, J. G. and Khorana, H. G.; J. Amer. Chem. Soc., 83,649(1961).

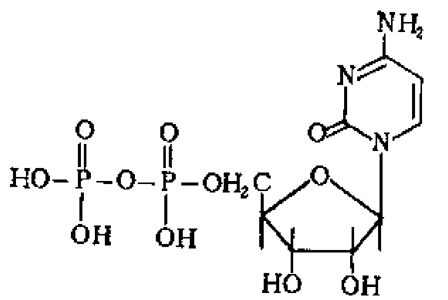
〔3〕 Canellakis, E. S. et al.; *Biochemical Preparations*, 9,120(1960).

胞苷-5′-二磷酸 Ⅱ-4(1)-0066

Cytidine 5′-diphosphate

别名 胞二磷；二磷酸胞苷；5′-胞苷二磷酸；5′-CDP；CDP

结构式



分子式 $C_9H_{15}N_3O_{11}P_2$ **分子量** 403.18

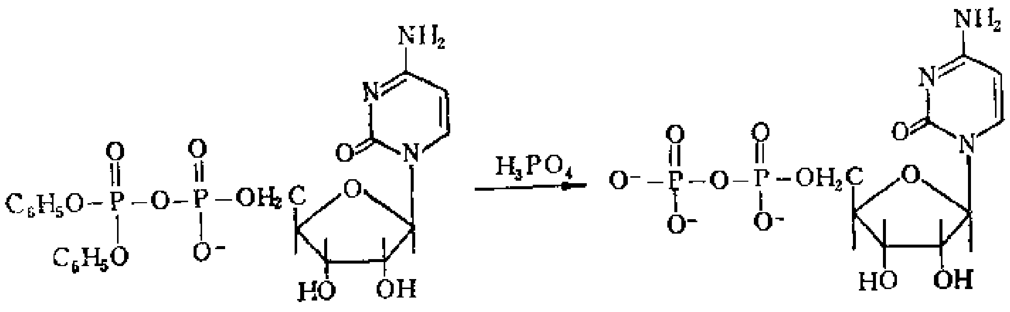
理化性质 在0.5mol/L硫酸中，100℃15分钟50%总磷释放为无机磷。钠盐分子式为$Na_3 \cdot CDP \cdot 4H_2O$（分子量541.22)。

理化参数 pK4.6（碱性基团)；<1、6.4（磷酸根）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\epsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
2	280	12.8	6.2	241	0.46	2.07	1.48
7,11	271	9.1	7.4	249	0.83	0.98	0.32

制备方法

一[1]、0.26mL(1.25mmol) 二苯磷酰氯加进含1mmol 5′-CMP单（甲基三正辛铵）盐的2mL二甲基甲酰胺和5mL二氧六环、0.24mL三正丁胺中，置室温3小时，减压浓缩至小体积，加25mL乙醚振摇得p¹-胞苷-5′-p²-二苯焦磷酸（Ⅰ），溶于2mL二氧六环，减压浓缩至胶状物，加含2.5mmol正磷酸三正丁胺盐的1.5mL吡啶，室温振摇过夜，减压抽去溶剂，



（Ⅰ）　　　　　　　　　　　　　　（Ⅱ）

加乙醚振摇，得胞苷-5′-二磷酸（Ⅱ）吡啶盐沉淀。溶于 5mL 乙醇-水（1:1），在pH4室温放置 2 小时，调pH2.5，加氯化钙乙醇溶液，用乙醇沉淀得 410mg 胞苷-5′-二磷酸的酸性钙盐。为了除去微量的二胞苷焦磷酸，将上述钙盐溶于水，通过氯型阴离子交换树脂 1× 5cm 柱层析分离纯化，合并含5′-CDP组分，用三正丁胺中和，并转换为5′-CDP锂盐。

二[2]、716mg(1mmol) 胞苷-5-磷酰吗啉的4-吗啉-N,N'-二环己基脒盐用无水吡啶反复蒸发 2 次。0.205mL(3mmol) 85%正磷酸溶于含0.715mL(3mmol) 三正丁胺的10mL吡啶中，反复用吡啶蒸发 3 次。将上述二者混合，用吡啶再蒸发 3 次，溶于10mL无水吡啶，振摇 1 小时使完全溶解，室温放置50小时，蒸发至干，用水反复蒸发带去吡啶，溶于含408mg(4mmol) 乙酸锂的10mL水中，用乙醚抽提，水相用氢氧化锂调pH12，0℃放置30分钟，滤去磷酸三锂沉淀，0.01mol/L氢氧化锂洗，合并滤液，用氢型阳离子交换树脂调pH8.0，过滤，通过氯型强阴离子交换树脂 2×10cm 柱层析分离纯化，用直线梯度洗脱，2L 0.003mol/L盐酸对2L 0.05mol/L氯化锂的0.003mol/L盐酸，收集胞苷-5′-二磷酸组分（83%），用氢氧化锂调pH4.5，减压浓缩，用10mL甲醇搅拌溶解，加 70mL 丙酮，白色沉淀用甲醇-丙酮洗净氯离子，乙醚洗，干燥得375mg胞苷-5′-二磷酸锂盐（含 3 分子水）。

贮存　0 ℃以下。

参 考 文 献

[1] Michelson, A. M.: *Biochim. Biophys. Acta.*, 91, 1(1964).

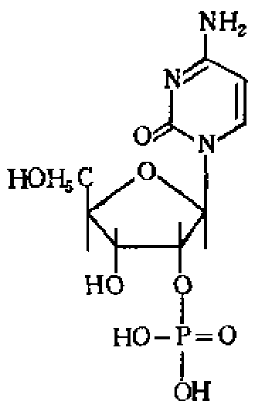
[2] Moffatt, J. G. and Khorana, H. G.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 83, 649(1961).

胞苷-2′-磷酸　　　　Ⅱ-4(1)-0067

Cytidine 2′-phosphate

别名　2′-胞苷酸　2′-Cytidylic acid; 2′-CMP

结构式



分子式 $C_9H_{14}N_3O_8P$ **分子量** 323.21

理化性质 微溶于水。在1mol/L盐酸中，100℃ 1小时仅5%裂解为核苷。在1mol/L氢氧化钠中，37℃16小时部分脱氨产生尿苷酸。铵盐分子式为 $NH_4 \cdot CDP \cdot H_2O$（分子量358.25）。

理化参数 熔点 238 240℃（分解）。$[\alpha]_D^{20}+20.7°$（$C=1.0$，水）。pK4.4（碱性基团）；<1，6.2（磷酸根）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\epsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
2	278	12.7	6.9	240	0.48	1.80	1.22
7					0.90	0.85	0.25
12	272	8.6		250	0.90	0.85	0.25

制备方法[1] RNA经0.3mol/L氢氧化钠或氢氧化钾水解后，用强阴离子交换树脂分得2′-CMP和3′-CMP混合物（见Ⅰ-4(1)-0062），稀释至离子浓度小于0.01mol/L，上甲酸型强阴离子交换树脂柱，每mL树脂可分离2mg核苷酸，上柱后水洗，0.01mol/L甲酸铵洗至无氯离子，然后用0.01mol/L甲酸以流速不超过3mg/cm²/min的速度拆开2′-CMP和3′-CMP(Ⅰ-4(1)-0068)。

贮存 0℃以下。

参考文献

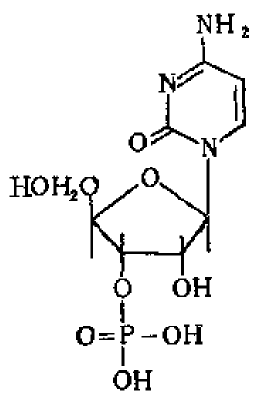
〔1〕 Cohn, W. E. and Khym J. X.: *Biochemical Preparations.*, 5,40(1957).

胞苷-3′-磷酸 Ⅰ-4(1)-0068

Cytidine 3′-phosphate

别名 3′-胞苷酸 3′-Cytidylic acid；3′-CMP

结构式



分子式 $C_9H_{14}N_3O_8P$ **分子量** 323.21

理化性质 溶于水。在1mol/L盐酸中，100℃ 1小时仅5%断裂为核苷。在1mol/L氢氧化钠中，37℃16小时部分脱氨得到尿苷酸。

理化参数 熔点232～234℃（分解）。$[\alpha]_D^{20}+49.4°$（$C=1.0$，水）。pK4.3（碱性基团），

<1，6.0（磷酸根）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\epsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
2	279	13.0	6.6	240	0.45	2.00	1.43
7	270	9.0	7.6	250	0.86	0.93	0.30
11	272	8.9	7.6	250	0.86	0.93	0.30

制备方法

一[1]、同胞苷-2′-磷酸（Ⅱ-4(1)-0067)制备方法。

二[2]、用3′-核糖核酸酶代替碱水解RNA，经强阴离子交换树脂柱分离可直接得到3′-CMP。

贮存　0℃以下。

参　考　文　献

〔1〕 Cohn, W. E. and Khym, J. X.: *Biochemical Preparations.*, 5, 40(1957).

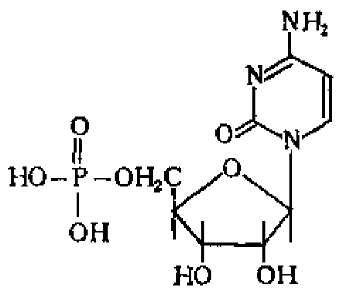
〔2〕 中国科学院上海生化所固相酶组:生物化学与生物物理学报, 9, 187(1977)。

胞苷-5′-磷酸　　Ⅱ-4(1)-0069

Cytidine 5′-Phosphate

别名　胞一磷；一磷酸胞苷；5′-胞苷酸　5′-Cytidylic acid；5′-CMP；CMP

结构式



分子式　$C_9H_{14}N_3O_8P$　　**分子量**　323.21

理化性质　自含水乙醇中得到片状结晶。

理化参数　熔点233℃(分解)。$[\alpha]_D^{14}$ +27.1°(C=0.54,水)。pK4.5（碱性基团)；<1，6.3（磷酸根)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\epsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
2	280	13.2	6.3	241	0.44	2.09	1.55
7,11	271	9.1	7.4	249	0.84	0.98	0.33

制备方法

一[1]、2g 2′,3′-O-异丙叉胞苷浮悬于10mLP_2O_5-H_3PO_4混合液中，60℃摇荡2小时，加40mL水，沸水浴中热20分钟，冷却，用氢氧化锂调pH 9，离心，冷水洗沉淀，合并滤液和洗液，减压浓缩至约20mL，再用氢氧化锂调pH9，离心，上清液通过2×10cm的氯型强阴离子交换树脂，水洗去胞苷，用0.003mol/L盐酸洗下5′-CMP，浓缩，加丙酮得沉淀1.58g(66%)。以苄叉胞苷为原料，用类似方法也可制得5′-CMP[2]。

二[3]、5′-核糖核酸酶水解RNA，可直接分离得到5′-CMP(以及其他三种5′-核糖核苷酸)。

贮存 0～5℃保存。

参 考 文 献

〔1〕 Chambers, R. W. et al.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 82, 970(1960).

〔2〕 Michelson, A. M.: *J. Chem. Soc.*, 1957(1958).

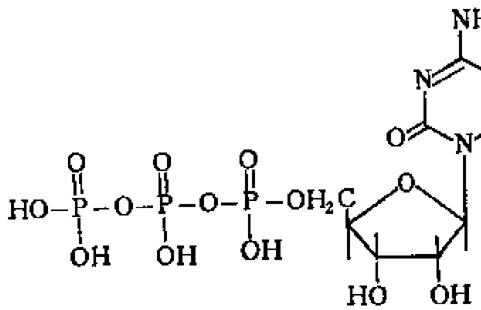
〔3〕 袁中一等：科学通报，14期654页（1980年）。

胞苷-5′-三磷酸　　Ⅱ-4(1)-0070

Cytidine 5′-triphosphate

别名 胞三磷；三磷酸胞苷；5′-胞苷三磷酸；5′-CTP；CTP

结构式



分子式 $C_9H_{16}N_3O_{14}P_3$　　**分子量** 483.16

理化性质 在0.5mol/L硫酸中，100℃15分钟有66%的总磷释放出无机磷。钠盐的分子式为Na_2H_2·CTP·H_2O(分子量599.21)。

理化参数 pK4.8(碱性基团)，<1，6.6(磷酸根)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\epsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	A_{250}/A_{260}	A_{280}/A_{260}	A_{290}/A_{260}
2	280	12.8	6.0	241	0.45	2.12	1.67
7,11	271	9.0	7.4	249	0.84	0.97	0.41

制备方法

一[1]、从胞苷-5′-磷酸（5′-CMP）酶促反应制备[1] 5mL反应液含15～20μmole5′-CMP、67μmol氯化镁、6.4μmolATP、77.1μmol磷酸肌酸、400μg肌酸激酶、200μmol pH7.4Tris缓冲液和1mL大肠杆菌粗酶制剂（见Ⅱ-4(1)-0074），38℃保温20分钟，水稀释后用甲酸型阴离子交换树脂分离纯化，步骤同Ⅱ-4(1)-0074，可制备CTP钡盐，然后用钠型阳树脂转变

为CTP钠盐。

二、化学合成法[2] 1.0mmol 5′-CMP游离酸溶于含5mL吡啶的100mL水中，冷冻干燥，得细粉末，加入10mL吡啶和5mL乙酸酐，浮悬液于25℃避光振荡12小时，得无色清液，再振荡12小时，加50mL冷水，25℃放置1小时，30℃减压抽干，于余留物加水反复浓缩，抽干，将沉淀溶于100mL水，冷冻干燥，得三乙酰胞苷-5′-磷酸白色粉末。溶于含1.16g (10mmol)85%正磷酸的20mL吡啶和5mL(21mmol)三正丁胺，加10.3g(50mmol)二环己基碳二亚胺，25℃保温24小时后，减压浓缩，浮悬于100mL水和100mL乙醚中，过滤，水洗，合并滤液和洗液，30℃减压抽干，溶于25mL水，加25mL浓氨水，25℃放置1小时，加50mL水稀释，乙醚抽提，过滤，水相减压抽干，溶于100mL水，调pH3.5，活性炭处理，用含20mL浓氨水的50%乙醇洗脱，抽干，溶于100mL水，离心，清液上柱纯化，3.5×30cm的碳酸型DEAE-纤维素，梯度为4L 0.002mol/L碳酸氢三乙胺对4L 0.5mol/L碳酸氢三乙胺，合并5′-CTP峰，抽干，用水反复带去碳酸氢三乙胺，溶于25mL水，通过1.5×10cm吡啶型阳树脂，流出液和水洗液真空浓缩至约10mL，加1mol/L氢氧化锂调pH7.5，加30mL丙酮，离心，用丙酮研磨得白色粉末，用丙酮洗，干燥，得150mg(22%)5′-CTP四锂盐。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

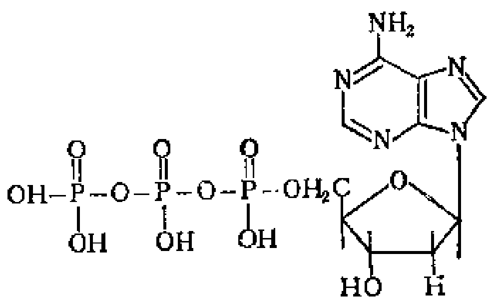
〔1〕 Canellakis, E. S. et al.: *Biochemical Preparations.*, 9, 120(1960).
〔2〕 Smith, M. and Khorana, H. G.: *Methods in Enzymology.*, 6, 647(1963).

脱氧腺苷-5′-三磷酸 Ⅱ-4(1)-0071

Deoxyadenosine 5′-triphosphate

别名 腺嘌呤脱氧核糖-5′-三磷酸 Adenine deoxyribose 5′-triphosphate; dATP

结构式



分子式 $C_{10}H_{16}N_5O_{12}P_3$ **分子量** 491.19

理化性质 钠盐分子式为 $C_{10}H_{12}N_5O_{12}P_3Na_4$(分子量 579.16)。

理化参数 紫外吸收数据 pH 7 A_{250}/A_{260}0.77, A_{280}/A_{260}0.14。

制备方法[1] 从脱氧腺苷-5′-磷酸(dAMP)酶促反应制备。将5mL反应液含15～20μmol dAMP、67μmol氯化镁1.6μmol ATP、123.3μmol磷酸肌酸、400μg肌酸激酶、200μmol pH7.4 Tris缓冲液和1mL大肠杆菌粗酶制剂(见Ⅱ-4(1)-0074)，于38℃保温40分钟，水稀释后通过甲酸型1×20cm阴离子交换树脂(200～400目)柱层析分离纯化，步骤同Ⅱ-4(1)-0074，得到dATP钡盐，用钠型阳树脂可使之转变为dATP钠盐。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

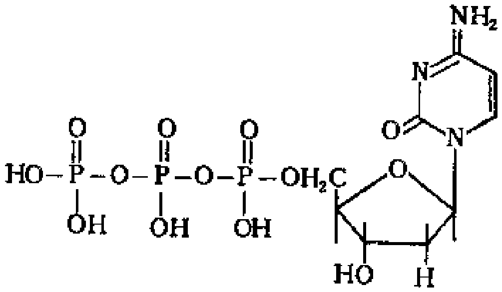
〔1〕 Canellakis, E. S. et al.: *Biochemical Preparations*., 9, 120(1960).

脱氧胞苷-5′-三磷酸 Ⅱ-4(1)-0072

Deoxycytidine 5′-triphosphate

别名 胞嘧啶脱氧核糖-5′-三磷酸 Cytosine deoxyribose 5′-triphosphate; dCTP

结构式



分子式 $C_9H_{16}N_3O_{13}P_3$ **分子量** 467.71

理化性质 钠盐分子式为 $C_9H_{12}N_3O_3P_3Na_4 \cdot H_2O$（分子量 573.15）。

理化参数 紫外吸收数据 pH2，A_{250}/A_{260}0.44，A_{280}/A_{260}2.14。

制备方法[1] 从脱氧胞苷-5′-磷酸（dCMP）酶促反应制备。将5mL反应液含15～20 μmol 5′-dCMP、67μmol 氯化镁 6.7μmol ATP、77.1μmol 磷酸肌酸、400μg肌酸激酶、200μmol pH7.4 Tris缓冲液和1mL大肠杆菌粗酶制剂（见Ⅱ-4(1)-0074），38℃保温20分钟，水稀释后通过甲酸型阴离子交换树脂1×20cm柱层析分离纯化，步骤同Ⅱ-4(1)-0074，可制得dCTP钡盐，用钠型阳离子交换树脂可转变为dCTP钠盐。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

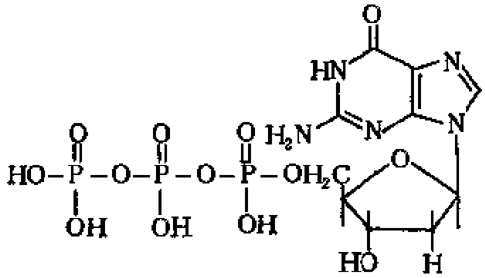
〔1〕 Canellakis, E. S. et al.: *Biochemical Preparations*., 9, 120 (1960).

脱氧鸟苷-5′-三磷酸 Ⅱ-4(1)-0073

Deoxyguanosine 5′-triphosphate

别名 鸟嘌呤脱氧核糖-5′-三磷酸 Guanine deoxyribose 5′-triphosphate; dGTP。

结构式



分子式 $C_{10}H_{16}N_5O_{13}P_3$ **分子量** 507.20

理化性质 钠盐分子式为 $C_{10}H_{12}N_5O_{13}P_3Na_4 \cdot 3H_2O$（分子量 649.22）。

理化参数 紫外吸收数据 pH7，A_{250}/A_{260}1.14，A_{280}/A_{260}0.66。

制备方法[1] 从脱氧鸟苷-5′-磷酸（dGMP）酶促反应制备。5mL 反应液含 15～20 μmol dGMP、67μmol 氯化镁 1.6μmol ATP、123.3μmol 磷酸肌酸、400μg 肌酸激酶、200μmol pH7.4 Tris缓冲液和1mL大肠杆菌粗酶制剂，38℃保温40分钟，水稀释后用甲酸型阴离子交换树脂分离纯化，步骤见Ⅱ-4(1)-0074，可制得dGTP钡盐，用钠型阳离子交换树脂转变为dGTP钠盐。

贮存 0℃以下。

参考文献

〔1〕 Canellakis, E. S. et al.: *Biochemical Preparations.*, 9, 120(1960).

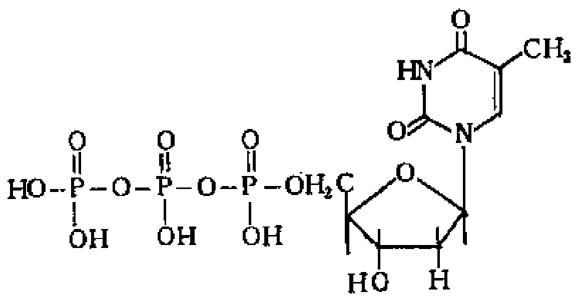
脱氧胸苷-5′-三磷酸 Ⅱ-4(1)-0074

Thymidine 5′-triphosphate

别名 胸苷-5′-三磷酸

胸腺嘧啶脱氧核糖-5′-三磷酸 Thymine deoxyribose 5′-triphosphate; dTTP; TTP

结构式



分子式 $C_{10}H_{17}N_2O_{14}P_3$ **分子量** 482.18

理化性质 钠盐分子式为$C_{10}H_{13}N_2O_{14}P_3Na_4 \cdot 2H_2O$(分子量606.18)。

理化参数 紫外吸收数据 pH2，A_{250}/A_{260} 0.64，A_{280}/A_{260} 0.72。

制备方法[1] 从脱氧胸苷-5′-磷酸酶促合成。

1．大肠杆菌B粗酶制剂的制备 100mL大肠杆菌的0.001mol/L pH7.5磷酸钾缓冲液的抽提液，加 4mL1mol/LpH8.0 磷酸钾缓冲液，37℃保温 1 小时后离心，于上清液加硫酸铵至55%饱和度，冰浴30分钟，高速离心得沉淀，沉淀溶于20mL0.1mol/LpH8.0磷酸钾缓冲液（结果pH为6.5～7.0），置65℃水浴搅拌至50℃，移至50℃水浴放90秒，迅速冷却至0℃，在1℃30000×g离心10分钟，黄色上清液对0.1mol/LpH7.4磷酸钾缓冲液透析过夜。酶制剂于－20℃保存。

2．5mL反应混合物含15～20μmol脱氧胸苷-5′-磷酸、67μmol氯化镁、6.4μmol ATP、77.1μmol磷酸肌酸、400μg肌酸激酶、200μmol pH7.4Tris缓冲液和1mL上述大肠杆菌酶制剂，在38℃保温30分钟后再加 77.1μmole 磷酸肌酸和400μg肌酸激酶，再保温20分钟，用水

稀释3～4倍，通过甲酸型1×20cm阴离子交换树脂（200～400目）柱层析分离，洗脱液采用pH4.25甲酸铵体系[2]，收集（脱氧）胸苷-5′-三磷酸（dTTP 或 TTP）组分，调pH6～7，稀释5～10倍，通过1×1cm的氯型阴离子交换树脂，水洗后用 0.1mol/L 氯化钠洗去甲酸盐等，3mol/L洗脱TTP，合并洗脱液，冷却，用高氯酸钡调pH8.5，加2.5倍体积95%乙醇，2～3小时后离心，95%乙醇、乙醚洗沉淀，干燥得TTP钡盐。钠型阳离子交换树脂可使TTP钡盐转变为钠盐。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

〔1〕 Canellakis, E. S. et al.: *Biochemical Preparations*, 9, 120(1960).

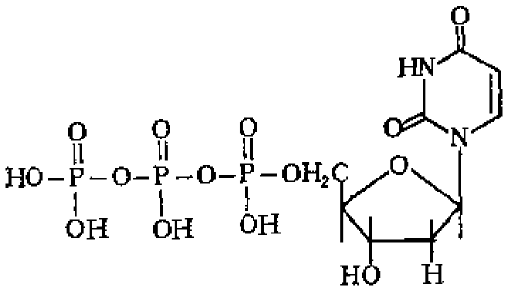
〔2〕 Canellakis, E. S. and Mantsavinos, R.: *Biochim. Biophys. Acta.*, 27, 643(1958).

脱氧尿苷-5′-三磷酸　　Ⅱ-4(1)-0075

Deoxyuridine 5′-triphosphate

别名 尿嘧啶脱氧核糖-5′-三磷酸 Uracil deoxyribose 5′-triphosphate; dUTP

结构式



分子式 $C_9H_{15}N_2O_{14}P_3$　　**分子量** 468.15

理化参数 紫外吸收数据 pH1，$\lambda_{最大}$262nm，A_{250}/A_{260}0.72，A_{280}/A_{260}0.45。

制备方法 从脱氧核苷-5′-磷酸(dUMP)酶促反应制备[1]。将5mL反应混合液含15～20μmol脱氧核苷-5′-磷酸、67μmol氯化镁、6.4μmolATP、77.1μmol 磷酸肌酸、400μg肌酸激酶、200μmol pH7.4 Tris 缓冲液和1mL大肠杆菌粗酶制剂（见Ⅱ-4(1)-0074），在38℃保温20分钟，水稀释后用甲酸型阴离子交换树脂1×20cm 柱层析分离纯化，除去甲酸盐后用高氯酸钡处理制得dUTP钡盐（同Ⅱ-4(1)-0074制备方法）。钠型阳离子交换树脂可使dUTP钡盐转变为钠盐。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

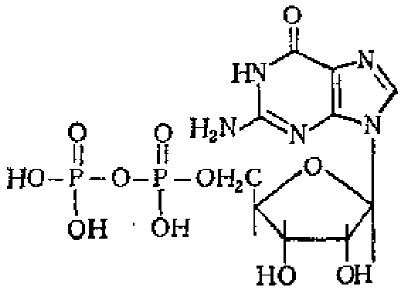
〔1〕 Canellakis, E. S. et al.: *Biochemical Preparations.*, 9, 120(1960).

鸟苷-5′-二磷酸　　Ⅱ-4(1)-0076

Guanosine 5′-diphosphate

别名 鸟二磷；5′-鸟苷二磷酸；二磷酸鸟苷；5′-GDP；GDP

结构式



分子式 $C_{10}H_{15}N_5O_{11}P_2$　　分子量 443.21

理化性质 0.5mol/L硫酸中，100℃15秒有50%总磷释放出无机磷；1小时后转变为鸟嘌呤、核糖-5-磷酸、核糖和无机磷。钠盐分子式为NaH_2·GDP·$2H_2O$(分子量501.23)。

理化参数 pK2.9(碱性基团)；9.6(酸性基团)；<1,6.3(磷酸根)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\epsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$
1	256	12.4	11.8	228	0.96	0.67
7	253	13.7	11.8	224	1.15	0.68
11	258	11.7	11.7	230	0.91	0.61

制备方法[1] 0.1mL二苯磷酰氯和0.175mL三正丁胺加进含0.25mmol鸟苷-5′-磷酸单（三正辛胺）盐的0.5mL二甲基甲酰胺和1mL二氧六环中，室温激烈摇振3小时，减压抽干，加乙醚处理得沉淀P¹-鸟苷-5′-P²-二苯焦磷酸，将沉淀溶于0.4mL二氧六环，减压浓缩，于上述溶液加0.5mmol磷酸三正丁胺盐的1mL吡啶，室温3小时后，0℃过夜，减压抽去溶剂，加无水乙醚振摇得沉淀，溶于3mL水，调pH3，加150mg$CaCl_2\cdot6H_2O$的7mL乙醇，产物为钙盐沉淀，离心，乙醇洗，溶于约4mL0.1N盐酸，加二倍体积乙醇得5′-GDP的酸性钙盐沉淀，收集沉淀，用乙醇、乙醚洗，干燥，产率为80～85%。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

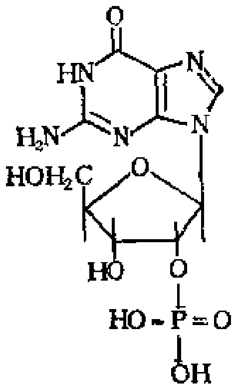
〔1〕 Michelson, A. M.: *Biochim. Biophys. Acta.*, 91, 1(1964).

鸟苷-2′-磷酸　　Ⅱ-4(1)-0077

Guanosine 2′-phosphate

别名 2′-鸟苷酸 2′-Guanylic acid；2′-GMP。

结构式



理化性质 溶于水。1mol/L盐酸中，100℃ 1小时水解产生鸟嘌呤、核糖和无机磷。

理化参数 熔点192℃(分解)。$[\alpha]_D^{25}$ －57.0°(C=1.0，2%氢氧化钠)。紫外吸收数据

pH	A_{250}/A_{260}	A_{280}/A_{260}	A_{290}/A_{260}
1	0.90	0.68	0.48
7	1.15	0.68	0.29
12	0.89	0.60	0.11

制备方法[1] RNA经0.3mol/L氢氧化钠或氢氧化钾水解后，用强阴离子交换树脂分得2′-GMP和3′-GMP混合物（见Ⅱ-4(1)-0062)稀释使离子浓度低于0.01mol/L，上氯型强阴离子交换树脂柱拆分2′-GMP与3′-GMP，每mL树脂可吸附2mg核苷酸，上柱后水洗，0.01mol/L氯化铵洗至pH<7,用0.005mol/L盐酸以不大于3mL/cm²/min流速洗脱出二个峰：2′-GMP和3′-GMP(Ⅱ-4(1)-0078)。

贮存 0℃以下。

参考文献

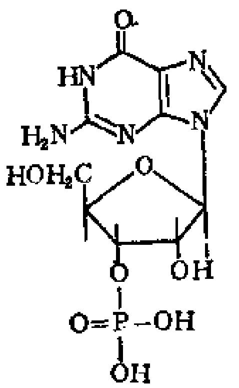
〔1〕 Cohn, W. E. and Khym, J. X.: *Biochemical Preparations.*, 5, 40(1957).

鸟苷-3′-磷酸 Ⅱ-4(1)-0078

Guanosine 3′-Phosphate

别名 3′-鸟苷酸 3′-Guanylic acid; 3′-GMP

结构式



分子式 $C_{10}H_{14}N_5O_8P$ **分子量** 363.22

理化参数 熔点（双水化物）175～180℃（分解）。$[\alpha]_D^{25}$ −57.0°（C=1.0，2%氢氧化钠）。pK2.3(碱性基团)，9.4(酸性基团)，0.7，5.9(磷酸根)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\epsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1	257	12.2	11.8	228	0.93	0.69	0.49
7	252	13.4	11.4	227	1.15	0.63	0.29
10.8	257	11.25	11.2	230	0.92	0.64	0.15

制备方法

一、[1]同鸟苷-2′-磷酸（Ⅱ-4(1)-0077）制备方法。

二、[2]用3′-核糖核酸酶代替碱水解 RNA，经强阴离子交换树脂柱层析分离可直接得到3′-GMP。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

〔1〕 Cohn, W. E. and Khym, J. X.; *Biochemical Preparations.*, 5, 40(1957).

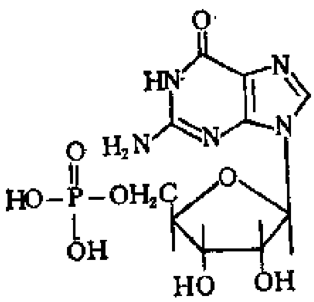
〔2〕 中国科学院上海生化所固相酶组：生物化学与生物物理学报，9，187（1977）。

鸟苷-5′-磷酸 Ⅱ-4(1)-0079

Guanosine 5′-phosphate

别名 鸟一磷；一磷酸鸟苷；5′-鸟苷酸 5′-Guanylic acid；5′-GMP；GMP

结构式



分子式 $C_{10}H_{14}N_5O_8P$ **分子量** 363.22

理化性质 含1/2分子水的结晶（分子量372.23）。1mol/L盐酸中，100℃1小时水解得到鸟嘌呤、核糖和无机磷。钠盐分子式为Na_2·GMP·H_2O(分子量 405.22)。

理化参数 熔点190～200℃(分解)。pK2.4（碱性基团)，9.4（酸性基团)，<1，6.1（磷酸根)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\epsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	A_{250}/A_{260}	A_{280}/A_{260}	A_{290}/A_{260}
1	256	12.2	11.6	228	0.96	0.67	0.29
7	252	13.7	11.7	224	1.16	0.66	0.29
11	258	11.6	11.5	230	0.90	0.61	0.29

制备方法[1]　323mg(1.0mmol)2′，3′-异丙叉鸟苷的10mL50%吡啶水溶液与4mL1mol/L2-氰乙基磷酸吡啶溶液(由磷酰氯$POCl_3$与β-羟基丙腈$HOCH_2CH_2CN$制备)混合，30℃减压蒸干，加无水吡啶反复蒸馏得到无水油状物，溶于10mL无水吡啶，在无水条件下加2g二环己基碳二亚胺，25℃放置18小时，加1mL水，于25℃30分钟后减压浓缩，加水反复蒸发除去残余吡啶，加40mL0.5mol/L氢氧化锂回流加热1小时，冷至室温，过滤，滤液通过3×4.5cm氢型阳离子交换树脂，水洗至中性，总体积约320mL，25℃放置2小时，30℃减压浓缩至50mL，加饱和氢氧化钡溶液至pH7.5，离心除去磷酸钡沉淀，水洗，合并溶液约180mL，加2倍体积95%乙醇，离心，用乙醇、丙酮和乙醚依次洗涤，得5′-GMP钡盐。将钡盐浮悬于10mL水中，用氢型阳离子交换树脂处理，用水完全洗脱5′-GMP，约200mL，加1mol/L氢氧化钠至pH7.5，浓缩至干，固体溶于5mL水，加15mL丙酮，离心，用丙酮、乙醚依次洗涤，干燥，得318mg(72%)5′-GMP二钠盐（含2分子水）。

另外，用5′-核糖核酸酶水解RNA，可直接分离得到5′-GMP（还可制备其他三种5′-核糖核苷酸）[2]。

贮存　0～5℃。

参考文献

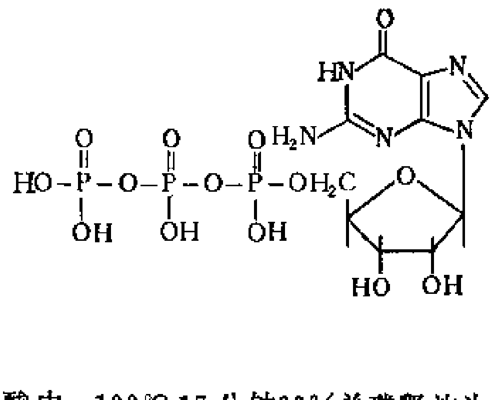
〔1〕 Smith, M. and Khorana, H. G.: *Methods in Enzymology*., 6, 645(1963).
〔2〕 袁中一等: 科学通报, 14, 654(1980)。

鸟苷-5′-三磷酸　　Ⅱ-5(1)-0080

Guanosine 5′-triphosphate

别名　鸟三磷；三磷酸鸟苷；5′-鸟苷三磷酸；5′-GTP；GTP

结构式



分子式　$C_{10}H_{16}N_5O_{14}P_3$　　**分子量**　523.19

理化性质　0.5mol/L硫酸中，100℃15分钟66%总磷释放为无机磷。钠盐分子式为Na_2H_2·GTP·$2H_2O$(分子量603.21)。

理化参数 pK3.3(碱性基团)，9.3(酸性基团)，<1,6.3(磷酸根)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\epsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1	256	12.4	11.8	228	0.96	0.67	0.49
7	253	13.7	11.7	223	1.17	0.66	0.27
11	257	11.9	11.8	230	0.92	0.59	0.11

制备方法

一、从鸟苷-5′-磷酸（GMP）酶促反应制备[1]。将5mL反应液含15～20μmol GMP、67μmol氯化镁1.6μmol ATP、123.3μmol磷酸肌酸、400μg肌酸激酶、200μmolpH7.4磷酸钾缓冲液和1mL大肠杆菌粗酶制剂（见Ⅱ-4(1)-0074），38℃保温40分钟，水稀释后用甲酸型阴离子交换树脂柱层析分离纯化，步骤同Ⅱ-4(1)-0074，制得GTP钡盐，钠型阳离子交换树脂可转变为GTP钠盐。

二[2]、用类似于5′-CTP(Ⅱ-4(1)-0070)制备方法也可制得5′-GTP。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

〔1〕 Canellakis, E. S. et al.: *Biochemical Preparations*., 9, 120(1960).

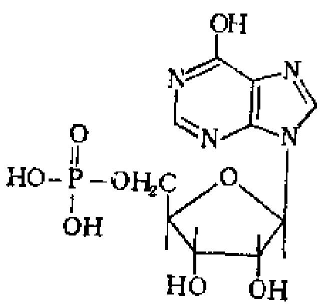
〔2〕 Smith, M. and Khorana, H. G.: *Methods in Enzymology*., 6, 647(1963).

肌苷-5′-磷酸 Ⅱ-4(1)-0081

Inosine 5′-phosphate

别名 5′-肌苷酸5′-Inosinic acid；次黄嘌呤核苷-5′-磷酸Hypoxanthine ribosyl 5′-phosphate；5′-IMP；IMP

结构式



分子式 $C_{10}H_{13}N_4O_8P$ **分子量** 348.21

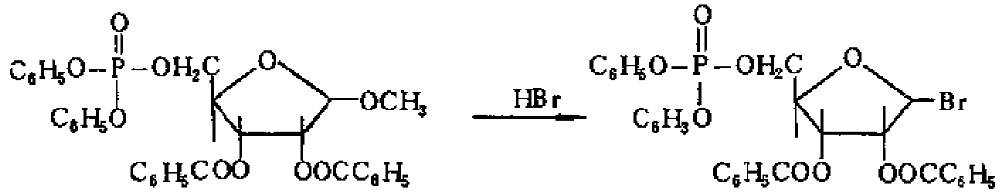
理化性质 溶于水、甲酸；极难溶于乙醇、乙醚。稀酸水解得到次黄嘌呤、核糖-5-磷酸、D-核糖和无机磷。钡盐是Ba·IMP·$7\frac{1}{2}H_2O$（分子量618.65)。

理化参数 $[\alpha]_D^{20}-18.4°$ (C=0.9, 0.2 mol/L盐酸)。pH8.9（碱基上酸性基团），1.6,6.0

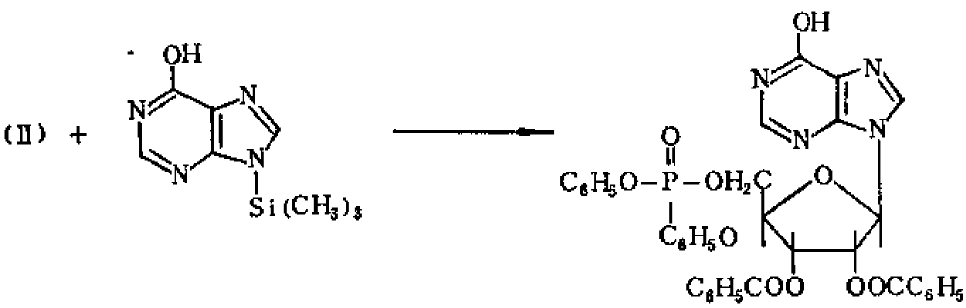
(磷酸根)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\epsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$
2	247	11.7	7.5		1.59	0.22
7	248	12.3		225	1.63	0.23
11	254	12.3	11.4	223	1.09	0.20

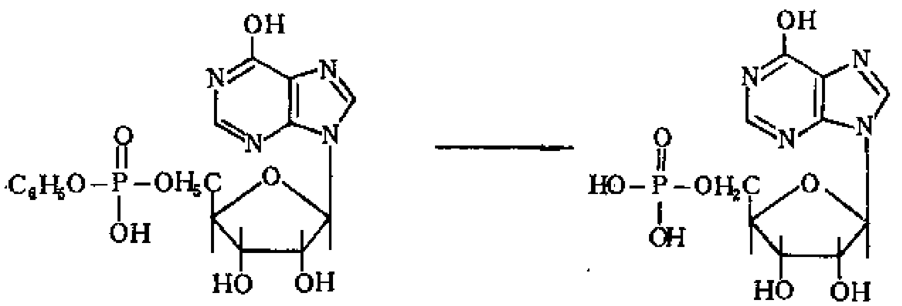
制备方法[1]



(Ⅰ)　　　　(Ⅱ)



(Ⅲ)　　　　(Ⅳ)



(Ⅴ)　　　　(Ⅵ)

3.0g 甲基-5-二苯磷酰-2,3-O-二苯甲酰-D-呋喃核苷(Ⅰ)经溴化氢的乙酸溶液处理产生相应的1-溴衍生物(Ⅱ),将(Ⅱ)与1.4g双(三甲硅)次黄嘌呤(Ⅲ)溶于70mL无水二甲苯中,减压抽干,于100~110℃放置50分钟,溶于30mL苯中,上3×30cm硅胶柱层析,苯、氯仿洗柱后,用氯仿-乙酸乙酯(80:20)洗脱反应产物,抽干得1.3g(59.2%)无色粉状产物9-(5-二苯磷酰-2,3-O-二苯甲酰-β-D-呋喃核糖基)次黄嘌呤(Ⅳ)。将700mg(Ⅳ)溶于10mL二氧六环,加10mL 1mol/L氢氧化钠室温放置3小时,用氢型阳离子交换树脂调pH2,过滤,滤液抽干,加7mL水,用乙醚反复抽提,水相减压抽干,丙酮处理得570mg

5′-苯磷酰次黄嘌呤核苷(Ⅴ)，然后用磷酸二酯酶于37～40℃保温20小时得到5′-IMP(Ⅵ)，用氢型阳离子交换树脂调pH2，浓缩，用氢氧化钡调pH9.5，离心除去不溶物，加乙醇于滤液，得IMP钡盐。

贮存 0℃以下。

参考文献

〔1〕 Shimizu, B. et al. :*Chem. Pharm. Bull.*, 15,1847(1967).

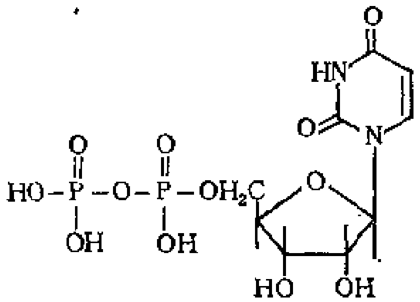
尿苷-5′-二磷酸

Ⅱ-4(1)-0082

Uridine 5′-diphosphate

别名 尿二磷；二磷酸尿苷；5′-尿苷二磷酸；5′-UDP；UDP。

结构式



分子式 $C_9H_{14}N_2O_{12}P_2$ **分子量** 404.16

理化性质 在0.5mol/L硫酸中，100℃ 15分钟50%总磷释放为无机磷。钠盐是$Na_2H\cdot UDP\cdot 3H_2O$（分子量502.19）。

理化参数 p*K* 9.4（碱基上酸性基团），<1，6.5（磷酸根）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\epsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	A_{250}/A_{260}	A_{280}/A_{260}	A_{290}/A_{260}
2,7	262	10.0	9.9	230	0.73	0.39	0.04
11	261	7.9	7.8	241	4.80	0.32	

制备方法[1] 6mmol尿苷-5′-磷酰吗啉的4-吗啉-*N*,*N*′-二环己基脒盐和24mmol正磷酸的双（三正丁铵）盐溶于50mL无水吡啶中，四天后，真空抽去吡啶，用水反复蒸发除净吡啶，加氢氧化锂调pH12，0℃放置1小时，滤去磷酸三锂盐，用0.01mol/L氢氧化锂洗，滤液用氢型阳离子交换树脂调pH8.0，上3×12cm的氯型阴离子交换树脂柱，用水和0.04mol/L氯化锂的0.003mol/L盐酸洗涤后，0.1mol/L氯化锂的0.003mol/L盐酸洗下尿苷-5′-二磷酸(UDP)，合并组分，用氢氧化锂调pH4.5，浓缩得白色固体，10mL甲醇搅拌溶解，加70mL丙酮，则沉淀，甲醇-丙酮洗净氯离子，再用乙醚洗，干燥得含1分子水的UDP锂盐。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

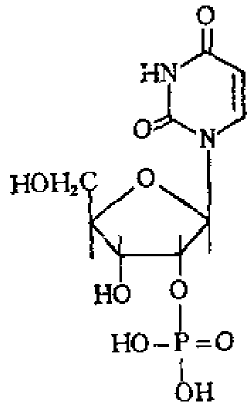
〔1〕 Moffatt, J. G. and Khorana, H. G.: J. *Amer. Chem. Soc.*, 83,649(1961).

尿苷-2′-磷酸 Ⅱ-4(1)-0083

Uridine 2′-phosphate

别名 2′-尿苷酸 2′-Uridylic acid; 2′-UMP

结构式



分子式 $C_9H_{13}N_2O_9P$ **分子量** 324.18

理化性质 白色无定形粉末。易溶于水。在0.05mol/L硫酸中，100℃ 30小时40%总磷释放为无机磷。在1mol/L盐酸中，100℃ 1小时5%分解。钡盐为Ba·UMP（分子量459.50）。

理化参数 熔点（二胺盐）190～191℃（分解）。$[\alpha]_D^{22}+32.3°$（$C=2.0$，水）。pK 9.4（碱基上酸性基团），1.0，5.9（磷酸根）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
2	260	9.9	230	0.80	0.28	0.03
7	260	10.0	230	0.78	0.30	0.03
12	261	7.3	242	0.85	0.25	0.02

制备方法[1] RNA经0.3mol/L氢氧化钠或氢氧化钾水解后，用强阴离子交换树脂分得2′-UMP和3′-UMP混合物（参阅Ⅱ-4(1)-0062）。将水解液稀释至离子浓度为0.01mol/L，用甲酸型强阴离子交换树脂分离，上柱后水洗，0.01mol/L甲酸铵洗，然后用0.05mol/L甲酸铵和0.00125mol/L甲酸缓冲液以低于3mL/cm²/min流速分开2′-UMP和3′-UMP（Ⅱ-4(1)-0084）。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

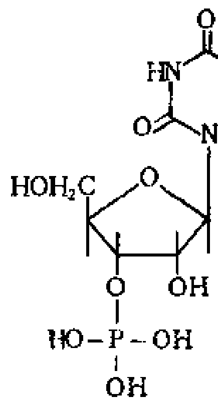
〔1〕 Cohn, W. E. andkhym, J. X.: *Biochemical Preparations.*, 5,40(1957).

尿苷-3′-磷酸　　　　Ⅱ-4(1)-0084

Uridine 3′-phosphate

别名　3′-尿苷酸　3′-Uridylic acid；3′-UMP

结构式



分子式　$C_9H_{13}N_2O_9P$　　　　**分子量**　324.18

理化性质　含1 $\frac{1}{2}$分子水的粉状物（分子量351.20）。溶于水。在10%硫酸中水解得到尿嘧啶。在1mol/L盐酸中，100℃ 1小时5%分解。在0.05mol/L硫酸中，100℃ 30小时81%总磷释放为无机磷。

理化参数　熔点192℃。$[\alpha]_D^{25}$ +22.3°（C=2.0，水）。pK 9.4（碱基上的酸性基团），1.0，5.9（磷酸根）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1	260	10.0	230	0.76	0.32	0.03
7	262	10.0	230	0.73	0.35	0.03
13	261	7.8	241	0.83	0.28	0.02

制备方法

一[1]、参照尿苷-2′-磷酸（Ⅱ-4(1)-0083）制备方法。

二[2]、用3′-核糖核酸酶代替碱水解RNA，经强阴离子交换树脂柱层析分离可直接得到3′-UMP。

贮存　0℃以下。

参 考 文 献

〔1〕 Cohn, W. E. and Khym, J. X.: *Biochemical Preparations.*, 5, 40(1957).

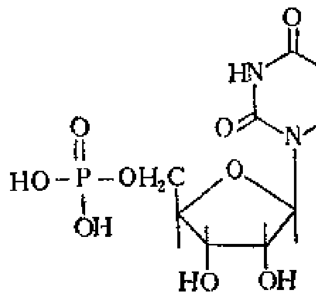
〔2〕 中国科学院上海生化所固相酶组：生物化学与生物物理学报，9，187(1977)。

尿苷-5′-磷酸 Ⅱ-4(1)-0085

Uridine 5′-phosphate

别名 尿一磷；一磷酸尿苷；5′-尿苷酸；5′-Uridylic acid；5′-UMP；UMP

结构式



分子式 $C_9H_{13}N_2O_9P$ **分子量** 324.18

理化性质 钡盐分子式为Ba·UMP·H_2O（分子量477.52），钠盐是Na_2·UMP·$2H_2O$（分子量404.20）。

理化参数 熔点（二番木鳖碱盐）190～202℃。$[\alpha]_D^{25}+3.44°$（$C=1.02$，10％盐酸）。pK 9.5碱基上酸性基团），～1，6.4（磷酸根）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\epsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
2,7	262	10.0	9.9	230	0.73	0.39	0.03
11	261	7.8	7.7	241	0.80	0.31	0.02

制备方法[1] 5g 2′,3′-O-异丙叉尿苷搅拌下加入25mL 60℃的五氧化二磷的85％磷酸（1∶1.3w/w)溶液中，稠状物间隔搅拌使缓慢溶解得到淡黄色溶液，2小时后，加100mL冷水，于100℃加热30分钟，用4mol/L氢氧化锂调pH10，离心除去磷酸三锂，用40mL水洗沉淀，合并溶液，减压浓缩至约50mL，离心，溶液通过4×14cm氯型阴离子交换树脂，用1L水洗去尿苷，0.015mol/L盐酸洗脱5′-UMP，30～35℃减压浓缩，于盛有氢氧化钾的干燥器中干燥，用乙醚洗，然后溶于10mL无水乙醇中，加100mL乙醚则沉淀，离心，干燥。再溶于40mL水，用4mol/L氢氧化锂调pH9.0，加10mL 2mol/L 乙酸钡，数小时后离心，除去小量磷酸钡，于溶液加等体积乙醇，得5′-UMP钡盐沉淀，用50％乙醇、无水乙醇和乙醚洗钡盐经氢型阳离子交换树脂处理后，加1mol/L氢氧化钠调pH8.0，浓缩至小体积，加丙酮沉淀得5′-UMP二钠盐（含二分子水）。

用5′-核糖核酸酶水解RNA，经阴离子交换树脂分离也可制得5′-UMP以及其他三种5′-核糖核苷酸[2]。

贮存 0℃以下。

参考文献

〔1〕 Smith, M. and Khorana, H. G.: *Methods in Enzymology*., 6,645(1963).

〔2〕 袁中一等：科学通报，14,654(1980)。

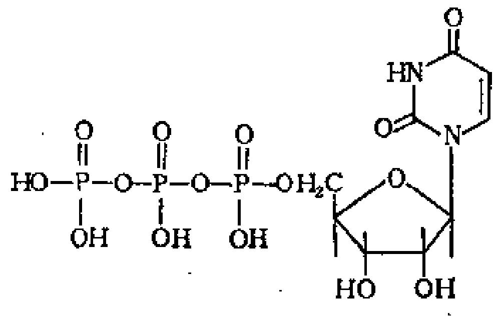
尿苷-5′-三磷酸

Ⅲ-4(Ⅰ)-0086

Uridine 5′-triphosphate

别名 尿三磷；三磷酸尿苷；5′-尿苷三磷酸；5′-UTP；UTP

结构式



分子式 $C_9H_{15}N_2O_{15}P_3$ **分子量** 484.15

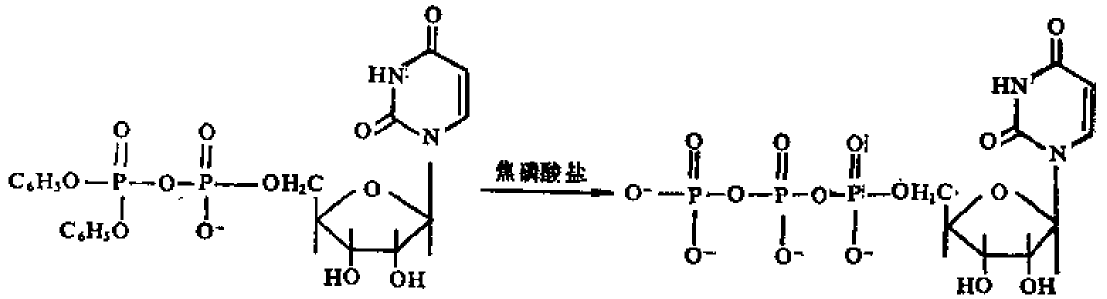
理化性质 在0.5mol/L硫酸中，100℃15分钟66%总磷释放为无机磷。钡盐为 $Ba_3(UTP)_2 \cdot 4H_2O$（分子量1446.34）；钠盐是 $Na_3UTP \cdot 2H_2O$（分子量586.15）。

理化参数 pK9.6（碱基上的酸性基团），～1，6.6（磷酸根）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times 10^{-3}$	$\epsilon_{260}\times 10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
2,7	262	10.0	9.9	230	0.75	0.38	0.04
11	261	8.1	8.0	239	0.81	0.31	0.02

制备方法

一[1]、0.3mL二苯磷酰氯和0.5mL三正丁胺加进含1mmol 5′-UMP三正辛胺盐的0.5mL二甲基甲酰胺和4mL二氧六环中，室温放置2小时，减压抽去溶剂，乙醚处理得P¹-尿苷-5′-P²-二苯焦磷数（Ⅰ），将（Ⅰ）溶于2mL二氧六环，浓缩，后加1.2～2mmol焦磷酸双(三正



（Ⅰ） （Ⅱ）

丁胺)盐的2.5mL吡啶，室温下放置45分钟，减压浓缩，加乙醚得沉淀UTP吡啶盐，溶于水，加氯化钙的乙醇溶液，加乙醇沉淀产生钙盐，收集产物，用乙醇、乙醚洗，干燥，产率75～85%。

二[2]、5mL酶促反应液中含15～20μmol尿苷-5′-磷酸（UMP）、67μmol氯化镁6.4

μmolATP、77.1μmol磷酸肌酸、400μg肌酸激酶、200μmol pH7.4 Tris缓冲液和1mL大肠杆菌粗酶制剂（见Ⅱ-4(1)-0074），38℃保温20分钟，水稀释后用甲酸型阴离子交换树脂分离纯化，步骤同Ⅱ-4(1)-0074，得到UTP钡盐，可用钠型阳离子交换树脂使之转变为UTP钠盐。

贮存 0℃以下。

参考文献

〔1〕 Michelson, A. M. :*Biochim. Biophys. Acta.*, 91,1(1964).

〔2〕 Canellakis, E. S. et al. :*Biochemical Preparations.*, 9,120(1960).

第二节 核酸碱基、核苷、核苷酸衍生物

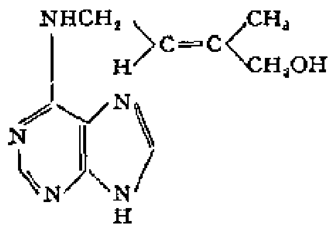
玉米素 Ⅱ-4(2)-0001

Zeatin

别名 6-(反-4-羟基-3-甲基-2-丁烯氨基）嘌呤 6-(trans-4-Hydroxy-3-methyl-2-butenylamino)puine;

N^6-(反-4-羟基异戊烯）腺嘌呤 N^6-(trans-4-Hydroxy-isopentenyl)adenine

结构式

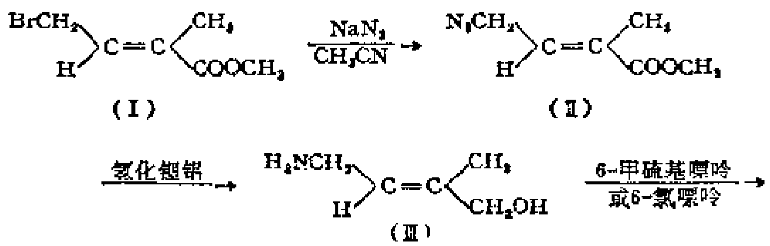


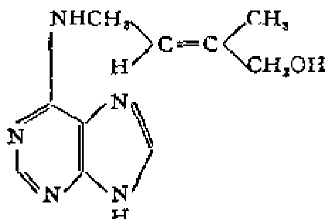
分子式 $C_{10}H_{13}N_5O$ **分子量** 219.24

理化参数 熔点207～208℃。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm
1	207 275	14.5 14.65	235
7	212 270	17.1 16.2	233
13	220 276	15.9 14.65	242

制备方法[1]





(Ⅳ)

63g γ-溴代-α-甲基巴豆酸甲酯（反式）(Ⅰ)和105g叠氮化钠的250mL乙腈溶液，回流2.5小时，冷却，过滤，滤液浓缩至油状，减压蒸馏得30g γ-叠氮-α-甲基巴豆酸甲酯(Ⅱ)，沸点65～68℃/266.644Pa。5.5g(Ⅱ)溶于200mL乙醚，搅拌下缓慢加2.2g氢化锂铝的300mL乙醚悬浮液，放置1小时，搅拌下滴加12mL水，30分钟后过滤，滤液用无水硫酸钠干燥，浓缩得3g油状物，在水中用0.5mol/L硫酸调pH3，抽干，加乙醇抽干，乙醚处理得固体，热乙醇中结晶得1.5g反-4-氨基-2-甲基-2-丁烯-1-醇(Ⅲ)硫酸盐，乙醇中重结晶得针状结晶，熔点108～110℃。0.5g(Ⅲ)硫酸盐加0.257g 6-氯嘌呤、0.5mL三乙胺和3mL正丁醇，回流1小时，浓缩至小体积，冷却得0.32g(88%)玉米素(Ⅳ)，水中重结晶为针状结晶。另一法是0.65g(Ⅲ)与0.25g 6-甲硫基嘌呤封管130～140℃ 16小时，用15mL水和2mL 2mol/L盐酸处理，过滤，于滤液加苦味酸沉淀，丙酮洗涤得0.2g玉米素苦味酸盐，熔点187～188℃。经氯化氢、氢氧化钠处理得0.073g玉米素(Ⅳ)。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

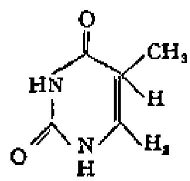
[1] Shaw, G. et al.: *J. Chem. Soc.* (C)921(1966).

5,6-二氢胸腺嘧啶　　Ⅲ-4(2)-0002

5,6-Dihydrothymine

别名 5,6-二氢-5-甲基尿嘧啶　5,6-Dihydro-5-methyluracil

结构式



分子式 $C_5H_8N_2O_2$　　**分子量** 128.13

理化参数 熔点264～265℃。紫外吸收数据pH13，$\lambda_{最大}$230nm，$\epsilon_{最大}8.1\times10^3$

制备方法[1] 200mg胸腺嘧啶（Ⅳ-4(1)-0007）溶于水，搅拌下用100mg铑催化剂室温常压氢化，至氢吸收停止（或λ_{260nm}的吸收值消失），过滤，滤液浓缩至干，乙醇重结晶得178mg 5,6-二氢胸腺嘧啶，产率90%。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

[1] Green, M. and Cohen, S. S.: *J. Biol. Chem.*, 225, 397(1957).

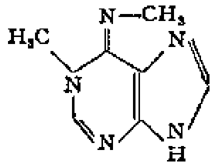
1,N^6-二甲基腺嘌呤

Ⅱ-4(2)-0003

1,N^6-Dimethyladenine

别名 1-甲基-6-甲氨基嘌呤 1-Methyl-6-methylaminopurine

结构式

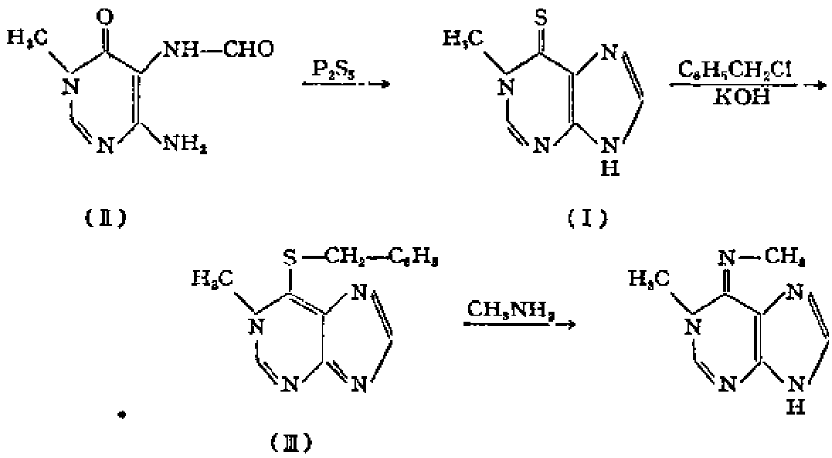


分子式 $C_7H_9N_5$ **分子量** 163.18

理化参数 苦味酸盐熔点236℃。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm
1	261	12.9	230
11	274	12.7	245

制备方法[1,2]



2.5g 1-甲基-6-硫代嘌呤(Ⅰ)(从4-氨基-5-甲酰氨基-1-甲基-6-酮基嘌呤(Ⅱ)制备)溶于含1.5g氢氧化钾的25mL水中，在40～45℃不断搅拌下缓慢加入二倍当量氯化苄和10mL二氧六环，约需2小时，再搅拌1小时，冷却，过滤，于乙醇-庚烷中重结晶，得45%产率的6-苄硫基-1-甲基嘌呤(Ⅲ)。2g(Ⅲ)搅拌下缓慢加进100mL预先于25℃用气相甲胺饱和的无水乙醇中，固体溶解，25～35℃搅拌1小时，冷至10℃，过滤，丙酮洗，干燥得1.2g粗产物(Ⅳ)，于甲醇-苯中重结晶。

参 考 文 献

〔1〕 Townsend, L. R. and Robins, R. K.: *J. Org. Chem.*, 27, 990, (1962).

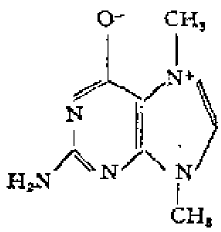
〔2〕 Broom, A. D. et al.: *Biochemistry.*, 3, 494 (1964).

7,9-二甲基鸟嘌呤 Ⅱ-4(2)-0004

7,9-Dimethylguanine

别名 Herbipoline

结构式



分子式 $C_7H_9N_5O$ **分子量** 179.19

理化参数 熔点310～312℃。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$
1	255 270～280	6650 4600
11	262	6650

制备方法[1] 50g鸟嘌呤浮悬于 500mL N,N-二甲基乙酰胺中，于90℃搅拌下加入100g硫酸二甲酯处理20分钟，温度升至140～145℃，继续搅拌105分钟，冷至室温，加1L甲醇并直接用浓氨水调至pH8，得到大颗粒沉淀，过滤，用250mL甲醇洗沉淀。将白色沉淀悬浮于1L的热甲醇中，搅拌30分钟，过滤，于85℃干燥15小时，得到48g白色产物。

参 考 文 献

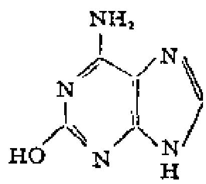
〔1〕 Jones, J. W. and Robins, R. K.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 84,1914(1962).

异 鸟 嘌 呤 Ⅱ-4(2)-0005

Isoguanine

别名 2-羟基腺嘌呤 2-Hydroxyadenine, 2-羟基-6-氨基嘌呤 2-Hydroxy-6-aminopurine

结构式



分子式 $C_5H_5N_5O$ **分子量** 151.13

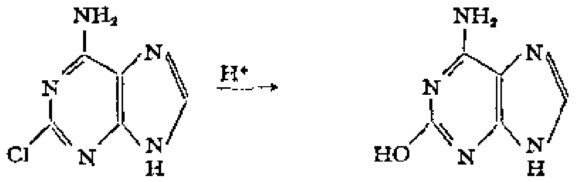
理化性质 含1½分子水的结晶（分子量178.15）。水中溶解度 0.006g/100mL（25℃），0.025g/100mL(100℃)。硫酸盐的分子式是 $(C_5H_5N_5O)_2 \cdot H_2SO_4$，含1分子水的结晶（分子量418.35），130℃真空处理3小时并不失去其中的结晶水。亚硝酸处理不脱氨。

理化参数 熔点>360℃。pK4.5（碱性基团），9.0（酸性基团）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$
2	284	11.7	248	0.45	3.16
7	240 285	7.8 8.0	210 255		
12	284	12.3	253	0.80	3.45

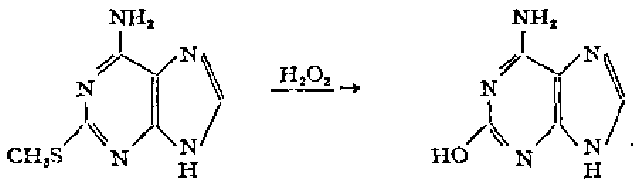
制备方法

一、从2-氯腺嘌呤制备[1]



(Ⅰ)　　　　(Ⅱ)

0.1g 2-氯腺嘌呤（Ⅰ）加2mL 20%盐酸回流45分钟，冷却后用氨水调至碱性，收集固体，洗涤，用3mL 1mol/mL硫酸加热处理，得57mg（Ⅱ）的硫酸盐，产率46%。



(Ⅲ)　　　　(Ⅱ)

二、从2-甲硫基腺嘌呤制备[2]　于2g 2-甲硫基腺嘌呤（Ⅲ）的50mL无水乙醇中，加入25mL 30%的过氧化氢，缓慢生成白色沉淀，于水浴温热，溶液激烈沸腾，固体缓慢溶解，将清液回流过夜至气体停止产生，反应物放置二天，过滤得浅黄色固体，溶于稀氢氧化钾，用活性炭脱色，乙酸沉淀得1.4g(Ⅱ)，产率94%。

贮存　室温。

参 考 文 献

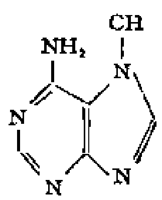
〔1〕 Davoll, J. and Lowy, B. A.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 74, 1563(1952).

〔2〕 Taylor, E. C. et al.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 81, 2442(1959).

7-甲基腺嘌呤　　Ⅱ-4(2)-0006

7-Methyladenine

结构式

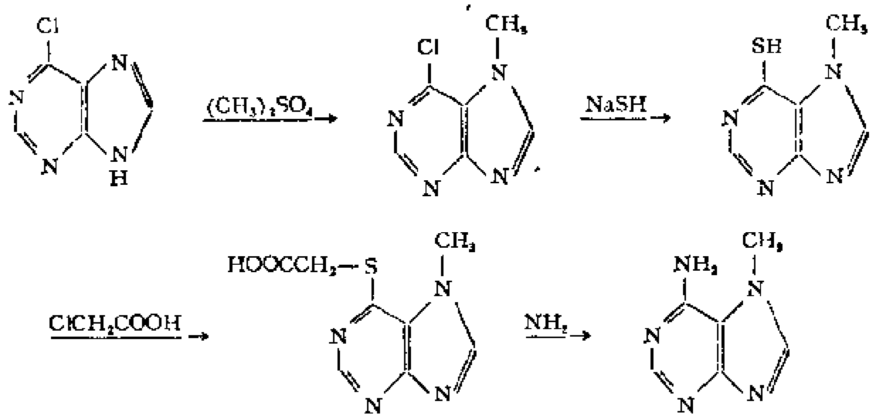


分子式 $C_6H_7N_5$　　**分子量** 149.16

理化参数 熔点336℃（分解）。pK4.2（碱性基团）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1	273	14.0	237	0.60	1.06	0.21
12	270	10.6	231	0.70	0.80	0.06

制备方法[1]



15.45g(0.1mol)6-氯嘌呤的200mL 0.55mol/L氢氧化钠中，在25分钟内滴加10.5mL（0.11mol）硫酸二甲酯，放置2小时，用水，封管140℃18小时，冷却，收集沉淀，氯仿抽提6次，合并抽提液，干燥抽提物，抽干得7-（和9-）甲基-6-氯嘌呤。16g上述粗制品加350mL 2mol/L硫氢化钠水溶液，封管室温放2天，得黄色沉淀13g，滤液酸化又得1.65g 7-（和9-）甲基-6-巯基嘌呤。利用7-甲基与9-甲基水中溶解度不同，可将它们分离（略）。

2g(0.012mol) 7-甲基-6-巯基嘌呤和1.15g(0.012mol) 氯乙酸，加5mL H_2O和1.5mL浓氨水，沸水浴中热5分钟，冷却，加50mL浓氨水洗，干燥得1.1g(67%) 7-甲基腺嘌呤。

参 考 文 献

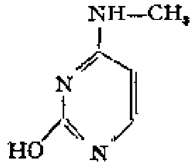
〔1〕 Elion, G. B.; *J. Org. Chem.*, 27, 2478(1962).

N^4-甲基胞嘧啶　　Ⅱ-4(2)-0007

N^4-Methylcytosine

别名 4-甲氨基-2-嘧啶酮　4-Methylamino-2-pyrimidinone

结构式



分子式 $C_5H_7N_3O$　　**分子量** 125.13

理化参数 熔点277～280℃(分解)。p*K*4.5（碱性基团），12.7(酸性基团)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1	277	10.5	240	0.50	1.66	1.03
7	267	7.2	248	0.79	0.66	0.14
14	286	8.0	256	0.96	3.27	3.23

制备方法[1] 3g 2-羟基-4-巯基嘧啶溶于100mL于0℃用甲胺饱和的甲醇溶液中，封管105℃20小时，冷却过滤得2.7g成品，可在水中重结晶。

参 考 文 献

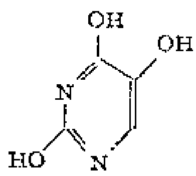
〔1〕 Ueda, T. and Fox, J. J.: *J. Org. Chem.*, 29, 1770(1964).

5-羟基尿嘧啶 Ⅱ-4(2)-0008

5-Hydroxyuracil

别名 2,4,5-三羟基嘧啶 2,4,5-Trihydroxypyrimidine

结构式



分子式 $C_4H_4N_2O_3$ **分子量** 128.09

理化参数 熔点>300℃（分解）。p*K*8.0（酸性基团）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
2	278	6.4	244	0.56	1.63	1.26
6	278	6.4	244	0.54	1.55	1.18
12	339 305	6.5 5.7	270	1.65	0.83	1.13

制备方法[1] 将573mg(3mmol)5-溴尿嘧啶溶于30mL水中，加378mg(4.5mmol)碳酸氢钠通氮气下回流20小时，酸化至pH1～2，冰箱过夜得>200mg粗产品，水中重结晶得纯品。

贮存 室温

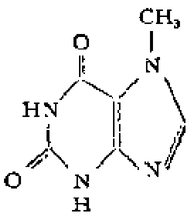
参 考 文 献

〔1〕 Wang, S. Y.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 81, 3786(1959).

7-甲基黄嘌呤 Ⅱ-4(2)-0009

7-Methylxanthine

结构式



分子式 $C_6H_6N_4O_2$ **分子量** 166.14

理化参数 熔点~380℃（分解）。p*K*8.4，~13（酸性基团）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
2	268	9.3	241		0.75	
6	269	10.0	240			
14	284	9.4	257	1.11	2.39	2.27

制备方法[1] 于0.104g 7-甲基鸟嘌呤（Ⅱ-4(1)-0007）的20mL 1mol/L盐酸中，加入0.5g亚硝酸钠，加热至80℃1小时，室温放数天至氨基完全反应，然后中和，得0.053g（50%）7-甲基黄嘌呤，于水中（活性炭处理）重结晶。

贮存 室温。

参 考 文 献

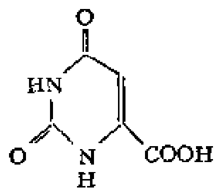
〔1〕 Haines, J. A. et al.: *J. Chem. Soc.*, 5281(1962).

乳 清 酸 Ⅱ-4(2)-0010

Orotic acid

别名 尿嘧啶-6-羧酸 Uracil-6-carboxylic acid；6-羧基尿嘧啶 6-Carboxyuracil。

结构式



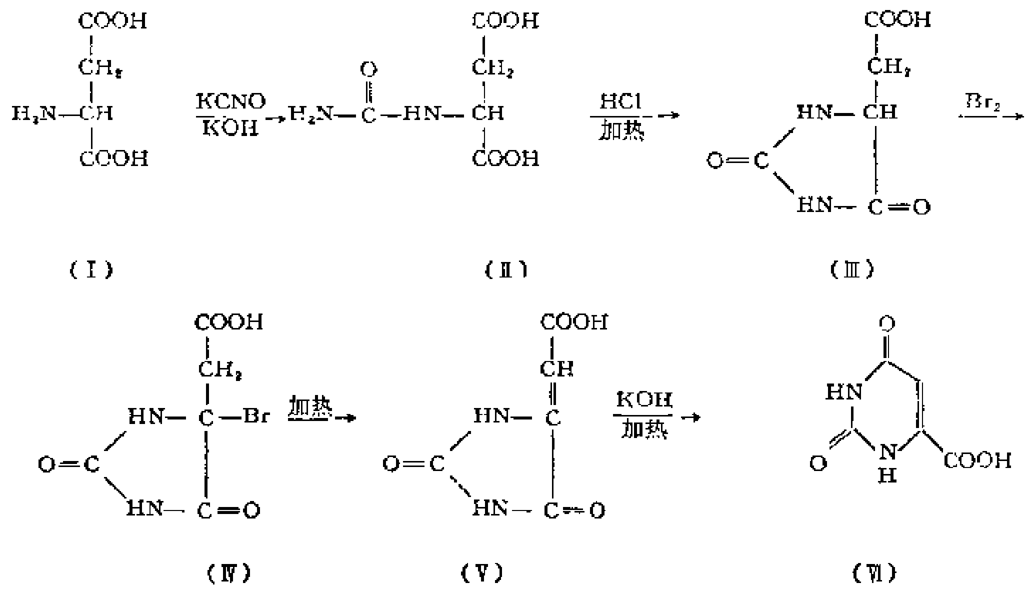
分子式 $C_5H_4N_2O_4$ **分子量** 156.10

理化性质 含1分子水的结晶（分子量174.12）。水中溶解度 0.18g/100mL(18℃)。

理化参数 熔点345℃（分解）。p*K*2.4，9.5，>13（酸性基团）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1	280	7.5	241	0.54	1.82	1.56
7	279	7.7	241	0.57	1.71	1.36
12	286	6.0	244	0.80	1.71	1.72
	240	8.9	222			

制备方法[1]



13g天冬氨酸（Ⅰ）和8g氰酸钾溶于100mL 1mol/L氢氧化钾中，在室温反应16小时，用浓盐酸酸化，2小时后滤出10.5g(68%) 脲基琥珀酸（Ⅱ)(熔点178～180℃)。将（Ⅱ）溶于35mL20%盐酸，浓缩近干，于水中重结晶，得7.9g(84%) 5-羧甲基乙内酰胺(Ⅲ)(熔点214～216℃)。4g（Ⅲ)和1.28g溴加16mL冰乙酸，密封情况下于100℃振摇1～1.5小时，过滤，沉淀浮悬于50mL沸水中,20分钟后所有固体溶解，冷却得5-羧甲烯基乙内酰胺(Ⅴ)。600mg(Ⅴ)溶于20mL 1mol/L氢氧化钾中，置64℃恒温水浴2小时，用浓盐酸酸化，于水中重结晶得557mg产率93%的无水产物乳清酸（Ⅵ)。

贮存 室温。

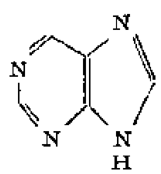
参 考 文 献

〔1〕 Nyc, J. F. and Mitchell, H. K.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 69, 1382(1947).

嘌 呤 Ⅱ-4(2)-0011

Purine

结构式

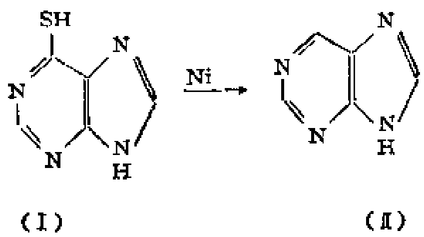


分子式 $C_5H_4N_4$ **分子量** 120.12

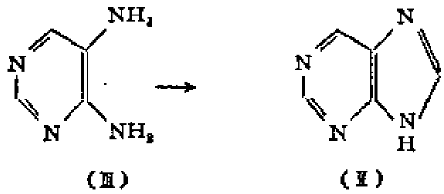
理化性质 易溶于水、热乙醇；微溶于丙酮；不溶于乙醚和三氯甲烷。在0.5mol/L硫酸中，100℃ 1小时有10%分解。在10mol/L氢氧化钠中，100℃ 1小时稳定,在pH 11和13时，紫外光照射产生蓝荧光。pH7则荧光较弱。

理化参数 熔点215～216℃。pK_a2.4，8.9。苦味酸盐熔点208～210℃，硝酸盐熔点203～204℃。pH10.4时的紫外吸收微据$\lambda_{最大}$271nm，$\lg\epsilon_{最大}$为3.90；$\lambda_{最小}$为235nm，$\lg\epsilon_{最小}$为3.00

制备方法



一、从6-巯基嘌呤制备[1] 于30g 6-巯基嘌呤（Ⅰ）（含1分子水）的700mL温热水溶液中，加70mL浓氨水和125g乙醇润湿的兰尼镍（Raney nickel），回流2小时，过滤，用少量水洗，合并滤液，加入60g乙醇润湿的阮内镍和40mL浓氨水，回流1小时，过滤洗涤同前，滤液由无色很快变为棕红色，滤液减压抽干，残渣用250mL温热乙醇处理数分钟，过滤，减压抽干得11～12g粗品（Ⅱ），纯化得8.7～10.2g(41～48%)。加活性炭于乙醇-苯中重结晶。



二、从4,5-二氨基嘧啶制备[2] 4g 4,5-二氨基嘧啶（Ⅲ）的23mL 98～100%甲酸溶液置100℃油浴通二氧化碳30分钟，于45分钟内升温至210℃，放30分钟，温度降至110℃，在二氧化碳蒸气下约2小时甲酸驱除完，收集结晶的（Ⅱ）3.03g，产率69%。

贮存 室温。

参考文献

[1] Beaman, A. G.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 76, 5633(1954).

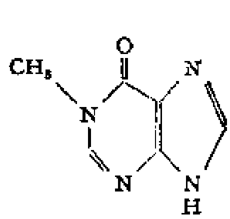
[2] Bendich, A. et al.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 76, 6073(1954).

1-甲基次黄嘌呤　　Ⅱ-4(2)-0012

1-Methylhypoxanthine

别名 1-甲基-6-嘌呤酮 1-Methyl-6-purinone

结构式



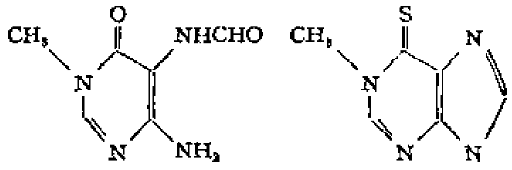
分子式 $C_6H_6N_4O$　　**分子量** 150.14

理化参数 熔点311～312℃。pK～2（碱性基团），8.9，～13（酸性基团）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1	249	9.4	219	1.37	0.10	0.01
5	251	9.4	223	1.31	0.16	0.02
11	260	9.7	242			

制备方法

一[1,2]、80g 1-甲基-4-氨基-5-甲酰氨嘧啶-6-酮（Ⅰ）加250mL 98～100%甲酸回流4小时，减压浓缩，加水150mL，用氢氧化铵中和，冷却过滤，干燥得60g(84.5%) 1-甲基次黄嘌呤，于50%甲醇水溶液中重结晶[1]。另外，20g(Ⅰ)加300mL 90%甲酸回流6小时，减压除去甲酸，水中重结晶得8.2g 1-甲基次黄嘌呤[2]。



（Ⅰ）　　（Ⅱ）

二[2]、2g 1-甲基-6-嘌呤硫酮浮悬于冰盐浴冷却的25mL无水乙醇中，25℃通二氧化碳至温度不上升为止，滤出沉淀，在甲醇-苯中重结晶，得1.4g产物。

贮存　室温。

参考文献

[1] Elion, G. B.: *J. Org. Chem.*, 27, 2478(1962).

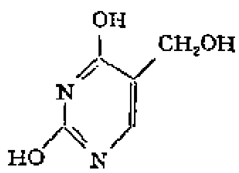
[2] Townsend, L. B. and Robins, R. K.: *J. Org. Chem.*, 27, 990(1962).

5-羟甲基尿嘧啶　　Ⅱ-4(2)-0013

5-Hydroxymethyluracil

别名　5-羟甲基-2,4-二羟基嘧啶　5-Hydroxymethyl-2,4-dihydroxypyrimidine

结构式



分子式　$C_5H_6N_2O_3$　　**分子量**　142.11

理化性质　12mol/L高氯酸于100℃加热破坏。

理化参数　熔点260～300℃（分解）。p*K*9.4，～14（酸性基团）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
2	261	8.0	231	0.77	0.32	
7	261	8.1	231	0.77	0.33	0.05
12	286	7.4	245	0.67	1.80	1.75

制备方法[1] 于500mL0.42mol/L氢氧化钾中加入36g(0.32mol) 尿嘧啶和12g多聚甲醛(0.4mol甲醛)，在50℃放75小时，加水至1400mL，加120g氢型阳离子交换树脂，搅拌，过滤，减压浓缩至约80mL，冰箱放置，过滤，固体于200mL水中重结晶得36.6g(0.26mol，81%) 粉状产物，于丙酮-水 (2:1) 中重结晶。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

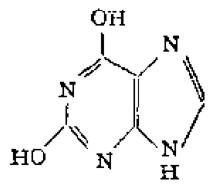
〔1〕 Cline, R. E. et al.; *J. Amer. Chem. Soc.*, 81, 2571(1959).

黄 嘌 呤 Ⅱ-4(2)-0014

Xanthine

别名 2,6-二羟基嘌呤 2,6-Dihydroxypurine。

结构式



分子式 $C_5H_4N_4O_2$ **分子量** 152.11

理化性质 片状物。水中溶解度 0.05g/100mL(20°)，0.2g/100mL(100℃)，溶于碱；微溶于乙醇；不溶于有机溶剂。在0.5mol/L硫酸或10mol/L氢氧化钠中，100℃1小时少于10%分解。

理化参数 p*K*~0.8 (碱性基团)，7.5，11.1 (酸性基团)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\epsilon_{260}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
0①	260 230.5	9.15 6.35	9.15	242	0.77	0.15	0.01
6	267	10.25	8.85	240	0.57	0.61	0.07
10	277.5 240.5	9.3 8.9	5.2	257	1.29	1.71	0.92
14②	284	9.4	3.75	257	1.11	2.39	2.27

① 6mol/L盐酸。

② 1mol/L氢氧化钠。

制备方法

一[1]、参考次黄嘌呤(Ⅱ-4(1)-0005) 制备方法。1g (7.9mmol) 5-氨基-4-咪唑酰胺用碳酸二乙酯处理，可得到0.3g(25%) 黄嘌呤。

二[2]、0.3g 4-氨基-5-咪唑酰胺盐酸盐和0.3g尿素，在175℃油浴中熔融2小时，冷却，加水，过滤黄嘌呤，洗涤，在1mol/L氢氧化钾中用活性炭脱色，加乙酸沉淀，得0.21g，产

率75%的产物。

贮存 室温。

参考文献

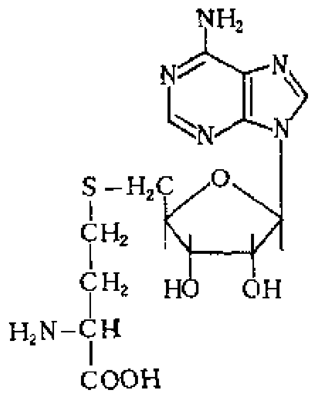
〔1〕 Yamazami, A. et al.: *J. Org. Chem.*, 32, 3258(1967).
〔2〕 Shaw, E.: *J. Biol. Chem.*, 185, 439(1950).

S-腺苷高半胱氨酸 Ⅱ-4(2)-0015

S-Adenosyl homocysteine

别名 *S*-(5′-脱氧腺苷-5′)-高半胱氨酸 *S*-(5′-Deoxyadenosine-5′)-homocysteine

结构式

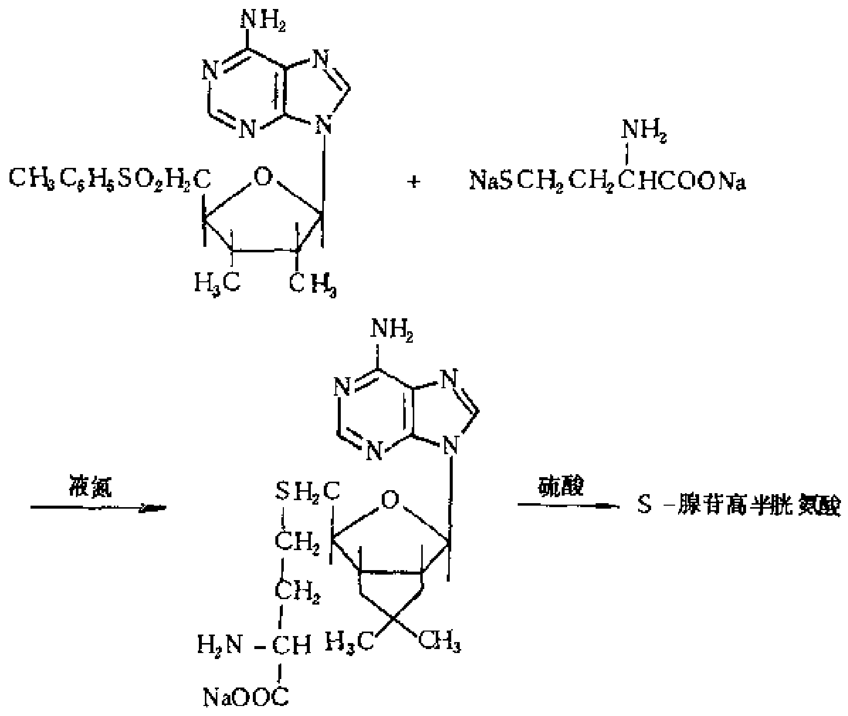


分子式 $C_{14}H_{20}N_6O_5S$ **分子量** 384.41

理化性质 自含水乙醇中得DL-型小棱晶，自水中得L-型无色针状结晶簇。溶于热水；微溶于冷水、乙醇，极难溶于乙醚。热的稀无机酸中分解得到*S*-核糖基高半胱氨酸。

理化参数 L-型熔点210℃。L-型$[\alpha]_D^{25}$+37（*C*=1.3，0.05mol/L硫酸）+39,°(*C*=1，0.1mol/L硫酸)，L-型$[\alpha]_D^{23}$+44.5°(*C*=1，0.05mol/L盐酸)。

制备方法[1,2]



将0.46g钠加进1.36g高半胱氨酸的50mL液氨和从4.6g 2′,3′-O-异丙叉腺苷新鲜制备的2′,3′-O-异丙叉-5′-O-对甲苯磺酰腺苷的50mL液氨中，蒸去溶剂，(用氢氧化钠干燥管防止潮气)，溶于水，滤去未反应的高半胱氨酸，滤液通过铵型阳离子交换树脂除去钠离子，洗脱液减压浓缩，通过氢氧型阴离子交换树脂除去对甲苯磺酸离子，减压抽干，得到S-(5′-脱氧-2′,3′-O-异丙叉腺苷-5′)-高半胱氨酸，加16mL0.5mol/L硫酸室温36小时脱除异丙叉基团，用计算量的氢氧化钡除去硫酸根，过滤，水洗，合并滤液，减压抽干，乙醇重结晶得520mg小棱晶产物，数次重结晶后熔点204℃（分解），苦味酸盐熔点170℃（分解）。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

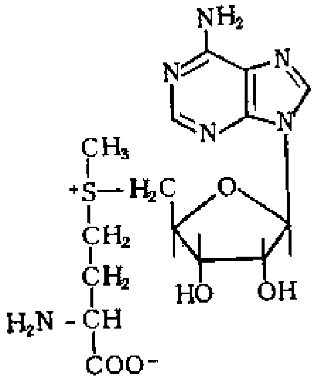
〔1〕 Baddiley, J. and Jamieson, G. A.; *J. Chem. Soc.*, 1085(1955).
〔2〕 Sakami, W.; *Biochemical Preparations.*, 8,8(1961).

S-腺苷甲硫氨酸 Ⅱ-4(2)-0016

S-Adenosylmethione

别名 *S*-(5′-脱氧腺苷-5′)-甲硫氨酸 S-(5′-Deoxyadenosine-5′)-methionine; Methyl (5-deoxyribosyladenine)(2-aminobutyro)thetin

结构式



分子式 $C_{15}H_{22}N_6O_5S$ **分子量** 398.44

理化性质 结晶固体。L-型极易溶于pH为2的甲醇溶液；溶于水，微溶于pH为6的甲醇溶液。干燥的固体或水溶液在室温均不稳定，在pH7左右可冰冻保存数月。碱性则迅速降解为甲硫基腺苷。

理化参数 L-型熔点 118～122℃（分解）。L-型$[\alpha]_D^{23}$ +48.5°(C=1.8, 5mol/L HCl)，L-溴盐 $[\alpha]_D^{23}$+16.8°(C=1, 水)。

制备方法

一、甲基化S-腺苷高半胱氨酸（Ⅱ-4(2)-0015)[1] 50mg S-腺苷高半胱氨酸溶于0.8 mL甲酸，搅拌下加0.5mL碘甲烷，封管置暗处室温放置5天，冻干，溶于水，乙醚抽提三次，冻干，用1×6cm阳离子交换树脂分离纯化，用0.01mol/L pH7.0磷酸缓冲液洗出S-腺苷高半胱氨酸，0.25mol/L乙酸洗彻底后，用4mol/L乙酸洗脱S-腺苷甲硫氨酸，冻干。

二、酶促合成[2]

1．甲硫氨酸腺苷转移酶（Methionyl adenosyl transferase）的制备　2只中等大小的兔子经最后一次喂养后15～20小时，静脉注射10%噻哪巴比通钠（Sodium Aeconal）（每公斤0.4～0.5mL），颈动脉放血，取肝切成小块，用2.5倍体积冷0.01mol/L乙酸匀浆，所有过程均在2℃进行，15000×g离心30分钟，通过玻璃丝过滤，于滤液搅拌下加2℃饱和的硫酸铵溶液（100mL滤液加56mL硫酸铵饱和液，搅拌20分钟，12000×g离心10分钟，每100mL酶制剂（原体积）加36mL硫酸铵饱和液，离心收集沉淀，沉淀可于－20℃保存数周。使用前将沉淀溶于冷的0.1mol/L pH6.7磷酸钾缓冲液，对100体积的0.02mol/L相同缓冲液透析2次4小时，透析液小心地用1.0mol/L氢氧化钾调pH6.0，即得甲硫氨酸腺苷转移酶制剂。

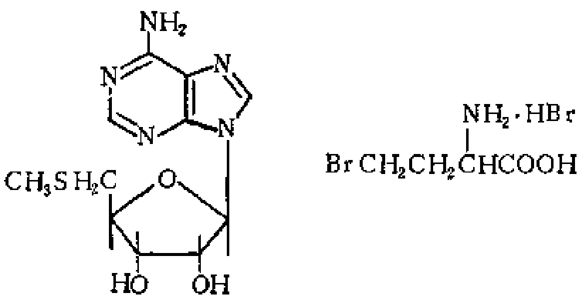
2．*S*-腺苷甲硫氨酸的制备　60mL反应液中含1500μmol ATP、40mmol氯化镁、30mmol pH7.6 Tris缓冲液、150mg谷胱甘肽和3000μmol L-甲硫氨酸，用玻璃电极维持pH 7.5～7.6，加上述酶制剂25mL，于37℃保温2～3小时，加等体积6%过氯酸停止反应，冷却离心，沉淀用冷的2%过氯酸洗涤，合并溶液，加2体积的1%雷氏铵（Ammonium reineckate）的2%过氯酸溶液，得微晶沉淀，2℃过夜，过滤，用冷的雷氏铵（0.5%水）洗二次，干燥得1.0～3.5g，于2℃保存。将上述*S*-腺苷甲硫氨酸的雷氏盐，溶于少体积甲乙酮后，离心，暗红色上清液移入分液漏斗加稍过量0.05mol/L硫酸，水相用甲乙酮反抽提直至无色，除去水相中的甲乙酮（调pH5.5～6.0后用2体积乙醚抽提2次），减压浓缩得*S*-腺苷甲硫氨酸硫酸盐。

三、用甲硫基腺苷和氨溴丁酸合成制备[3]

1．制备甲硫基腺苷　4g干燥的2′,3′-*O*-异丙叉腺苷溶于100mL温热无水吡啶，加2.75g对甲苯磺酰氯的10mL无水苯，室温过夜，加10mL水，蒸去溶剂，溶于氯仿，用冷的0.5mol/L硫酸、碳酸氢钠、水分别洗涤，干燥，抽干，溶于50mL新鲜重蒸的二甲基甲酰胺，加3g甲硫醇钠（由甲硫醇通进含2.3g金属钠的50mL甲醇中制备），蒸气浴中加热2小时，出现固体，冷却，加小量水，氯仿抽提4次，合并氯仿液，浓缩，溶于25mL乙酸，加25mL 0.1mol/L硫酸，室温20小时，用定量氢氧化钡除去硫酸根，抽干溶液，溶于含小量乙醇的水中，上氢型树脂，20%乙醇洗，氨水（浓氨-水＝1:1）洗脱产物（Ⅰ），得1.8g，水中重结晶，熔点207℃。

2．制备氨溴丁酸　2g α-氨基-γ-丁内酯和溴化氢饱和的20mL乙酸，封管110℃振荡7小时，抽去溶剂，乙酸中结晶得2.3g长棱形结晶（Ⅱ），熔点163～166℃。

3．甲硫基腺苷（Ⅰ）与氨溴丁酸（Ⅱ）反应　100mg（Ⅰ）溶于1.5mL甲酸和0.5mL乙酸加



（Ⅰ）　　　（Ⅱ）

104mg的(Ⅱ)，于室温黑暗中放5天，抽去溶剂后，溶于水，用纸层析（3号滤纸，展层剂为正丁醇-乙酸-水=4:1:5）鉴定并分离，S-腺苷甲硫氨酸的锍化物留在原点，经洗脱得到产物。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

〔1〕 de la Heba, G.; *J. Amer. Chem. Soc.*, 81, 3975(1959).

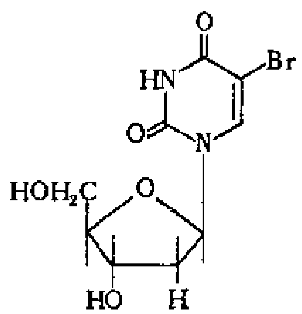
〔2〕 Cantoni, G. L.; *Biochemical Preparation.*, 5, 58(1957).

〔3〕 Baddiley, J. and Jamieson, G. A.; *J. Chem. Soc.*, 4280(1954).

5-溴脱氧尿苷 Ⅱ-4(2)-0017

5-Bromodeoxyuridine

结构式



分子式 $C_9H_{10}N_2O_5Br$ **分子量** 306.99

理化参数 溶于水。pK_a8.1。紫外吸收数据 pH2，$\lambda_{最大}$280nm，$\epsilon_{最大}$9.25×10^3。熔点187～189℃。

制备方法[1] 1g脱氧尿苷加5℃饱和的溴水至核苷完全溶解和红色不消失，通空气除去过量溴，于无色溶液加150mL冰乙酸，缓慢地多次冻干，加250mL无水乙醇，置沸水浴12分钟（保持乙醇体积不变），室温减压浓缩至浆状，加10mL乙醇温热溶解，加乙醚至混浊，室温放2天，得白色针状结晶0.88g，母液浓缩，用甲醇-乙酸乙酯处理又得结晶产物。

贮存 0℃以下。

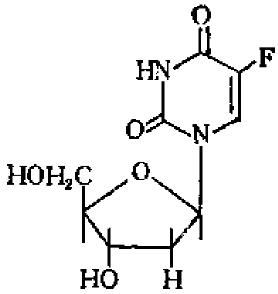
参 考 文 献

〔1〕 Beltz, R. E. and Visser, D. W.; *J. Amer. Chem. Soc.*, 77, 736(1955).

5-氟脱氧尿苷 Ⅱ-4(2)-0018

5-Fluorodeoxyuridine

结构式



分子式 $C_9H_{10}N_2O_5F$ **分子量** 246.08

理化性质 白色结晶。溶于水。pK_a7.6。

理化参数 熔点150～151℃。$[\alpha]_D-21°(H_2O)$。

制备方法[1] 5-氟尿嘧啶[2]和乙酸汞在甲醇水溶液中回流，得到单汞5-氟尿嘧啶（Ⅰ）。另由甲基-2-脱氧-D-呋喃核苷制备得到3,5-*O*-二（对甲苯甲酰）-2-脱氧-D-核糖基氯（Ⅱ）。（Ⅰ）与（Ⅱ）反应产生α-与β-异构体1-〔3',5'-*O*-二（对氯苯甲酰）-2-脱氧-D-核糖 基〕-5-氟尿嘧啶，脱酰基后用吡啶分步分离，先得到β-异构体，即所需的5-氟脱氧尿苷（41%），从母液则得到α-异构体（27%）。

贮存 室温。

参 考 文 献

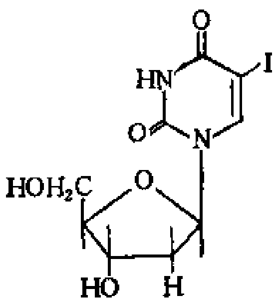
〔1〕 Hoffer, M. et al.: *J. Amer Chem. Soc.*, 81, 4112(1961).

〔2〕 Duschinsky, R. and Pleven, E.: *J. Amer Chem. Soc.*, 79, 4559(1958).

5-碘脱氧尿苷 Ⅱ-4(2)-0019

5-Iododeoxyuridine

结构式



分子式 $C_9H_{10}N_2O_5I$ **分子量** 353.98

理化性质 无色结晶。溶于水。

理化参数 紫外吸收数据 pH 2 $\lambda_{最大}$288 nm，$\varepsilon_{最大}7.77\times10^3$，$\lambda_{最小}$248 nm；pH 12 $\lambda_{最大}$278 nm，$\lambda_{最小}$253nm。

制备方法[1] 400mg脱氧尿苷和400mg碘在2mL氯仿和4mL 1mol/L硝酸中回流2小时，得白色针状结晶5-碘脱氧尿苷，过滤，乙醚洗去未反应的碘，在热水中重结晶，得350mg纯品，产率56%。

贮存 0～5℃。

参 考 文 献

〔1〕 Prusoff, W. H. *Biochim. Biophys. Acta.*, 32, 295(1959).

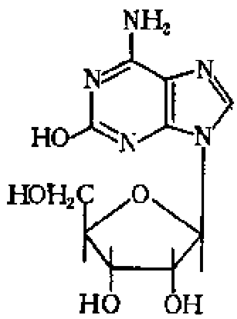
异 鸟 苷

Ⅱ-4(2)-0020

Isoguanosine

别名 2-羟基腺苷 2-Hydroxyadenosine；巴豆苷 Crotonoside。

结构式

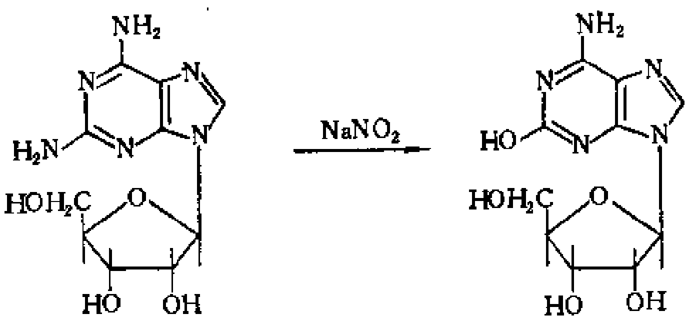


分子式 $C_{10}H_{13}N_5O_5$ **分子量** 283.25

理化参数 熔点237～252℃（分解）。$[\alpha]_D^{28}$ −71°（C=1.06，0.1mol/L氢氧化钠）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$ nm	$\epsilon_{最大}$ ×10⁻³
1.2	235 283	6.14 12.7
(水)	247 293	6.9 11.1
12.8	251 285	6.9 10.55

制备方法[1]



(Ⅰ) (Ⅱ)

0.3g 2,6-二氨基嘌呤核苷（Ⅰ）和0.45g亚硝酸钠溶于5mL热水中，冷至50℃，加0.45mL冰乙酸处理，胶状物置50℃5分钟，加15mL水稀释，加热得到清液，分离得到0.17g(57%)的（Ⅱ）铅盐，用水重结晶二次，得0.12g针状结晶。

异鸟苷也可从棉豆制备[2]。

参考文献

〔1〕 Davoll, J.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 73, 3174(1951).

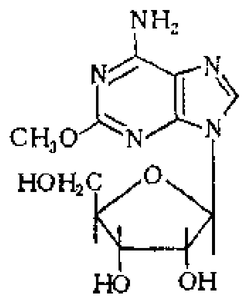
〔2〕 Davoll, J. and Lowy, B. A.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 73, 1650(1951).

2-甲氧基腺苷　　Ⅱ-4(2)-0021

2-Methoxyadenosine

别名　海绵核苷　Spongosine

结构式

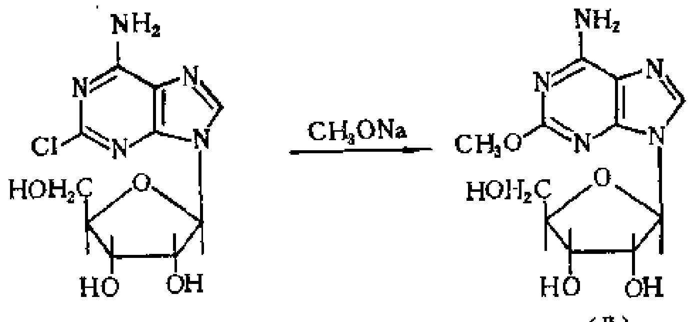


分子式　$C_{11}H_{15}N_5O_5$　　**分子量**　297.27

理化参数　熔点191～193℃。$[\alpha]_D^{25}$ −43.3±2.3°(0.61%甲醇)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$ nm	$\varepsilon_{最大}\times10^{-3}$
1	249 274	8.35 11.9
7	267	12.5
13	268	12.7

制备方法[1]



(Ⅰ)　　(Ⅱ)

于302mg(1.00mmol)的6-氨基-2-氯嘌呤核苷（Ⅰ）的50mL甲醇中，加2mL 1mol/L的甲醇钠，回流16小时，冷却后用1mol/L盐酸中和真空蒸馏，残留物于水中二次重结晶，得纯品(Ⅱ)，130℃(9.33Pa)五氧化二磷干燥得104mg(35%)。

参 考 文 献

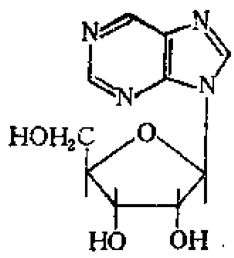
〔1〕 Schaeffer, H. J. and Thomas, H. J.; *J. Amer. Chem. Soc.*, 80, 3738(1958).

水 粉 蕈 素 Ⅱ-4(2)-0022

Nebularine

别名 嘌呤核苷；9-β-D-呋喃核糖基嘌呤 9-β-D-Ribofuranosylpurine

结构式



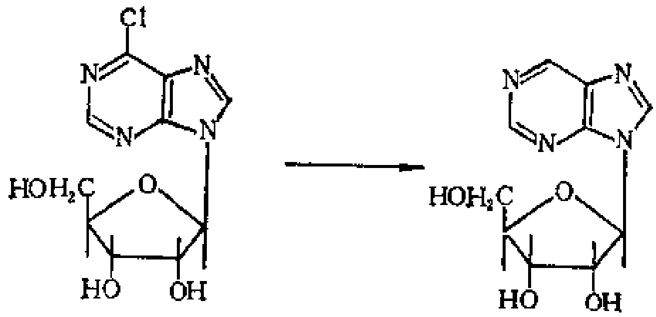
分子式 $C_{10}H_{12}N_4O_4$ **分子量** 252.23

理化参数 熔点181～182℃。$[\alpha]_D^{25}$ −48.6°(C=1.0，水)。pK2.1（碱性基团）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$ nm	$\epsilon_{最大}\times 10^{-3}$	$\lambda_{最小}$ nm	A_{250}/A_{260}	A_{280}/A_{260}	A_{290}/A_{260}
1	262	5.9	235	0.74	0.29	0.07
(水)	262	7.1	222	0.71	0.11	0.04
13	262	7.1	234	0.71	0.22	0.11

制备方法[1]

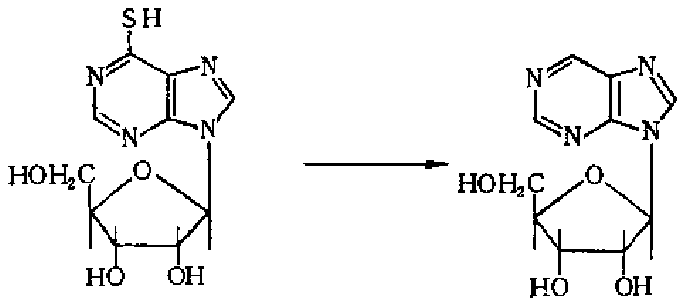
一、



(Ⅰ) (Ⅱ)

从6-氯嘌呤核苷制备　500mg 6-氯-9-β-D-呋喃核糖基嘌呤（Ⅰ）溶于75mL水，加70mg氧化镁和170mg 5%铂炭催化剂，浮悬液常温常压下通氢气，迅速吸收氢气至理论值（42.5mL）即停止，过滤，减压浓缩滤液至浆状，溶于20mL热甲醇，缓慢冷却，沉淀用热乙醇重结晶，得284mg纯产品（Ⅰ）。

二、从6-巯基嘌呤核苷制备　1g 6-巯基-9-β-D-呋喃核糖基嘌呤(Ⅲ)溶于50mL热水，加1～2g兰尼镍，搅拌回流3小时，318nm吸收高峰消失，过滤，合并滤液和洗涤液，减压浓缩至浆状，溶于热乙醇，反复浓缩数次（加乙醇抽干）除去湿气，干的浆状物溶于热



（Ⅲ）　　　　　　（Ⅱ）

乙醇，活性炭脱色，滤液浓缩至约15mL，冷却放置，过滤得0.52g（Ⅰ），产率58%。

参 考 文 献

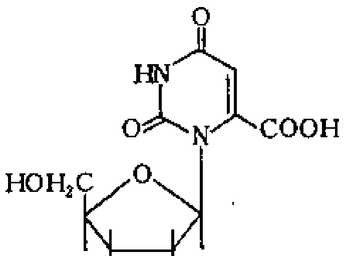
〔1〕 Wempen, I. and Fox, J. J.: *Methods in Enzymology.*, 12A,76(1967).

乳 清 苷　　　　Ⅱ-4(2)-0023

Orotidine

别名　乳清酸核苷　Orotic acid riboside；尿苷-6-羧酸　Uridine-6-Carboxylic acid；6-羧基尿苷6-Carboxyuridine；1-β-D-呋喃核苷乳清酸 1-β-D-Ribofuranosidoorotic acid

结构式



分子式　$C_{10}H_{12}N_2O_8$　　　　**分子量**　288.22

理化性质　溶于水、乙醇。易为稀无机酸所水解，环己胺盐分子式为 $C_{10}H_{12}N_2O_8 \cdot C_6H_{13}N$（分子量　387.40）。

理化参数　熔点＞400℃，环己胺盐熔点183～184℃。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$ nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$ nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1	267	9.8	234	0.66	0.81	0.37
13	266	7.8	245	0.83	0.71	0.29

制备方法[1,2] 2.0g乳清酸加入200mL正丁醇和2.0mL浓硫酸中，回流6小时，过滤，滤液浓缩至约40mL，冷却，加50mL水，得1.9g沉淀，水中重结晶得1.8g（78%）乳清酸正丁酯，熔点182～184℃。将乳清酸正丁酯转变为单汞衍生物，在二甲苯中与2,3,5-*O*-三苯甲酰-D-呋喃核糖基氯回流3小时，冷却，过滤，将滤液倒入大量石油醚中，浆状物用甲醇钠的甲醇液处理，碱水解脱去保护基，用氯型阴离子交换树脂柱分离提纯，梯度洗脱液，为水对0.1mol/L碳酸氢铵，收集乳清苷主峰，用活性炭去盐，乙醇-氨洗脱，通过环己胺型阳离子交换树脂得到乳清苷的环己胺盐557mg，产率14.5%。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

〔1〕 Ross, L. O. et al.: *J. Org. Chem.*, 25, 1950(1960).

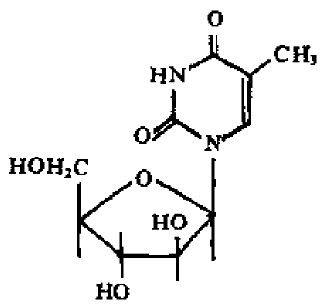
〔2〕 Curran, W. V. and Angier, R. B.: *Tetrahedron Letters*, 533(1963).

海 绵 胸 苷 Ⅱ-4(2)-0024

Spongothymidine

别名 1-β-D-呋喃阿拉伯糖基胸腺嘧啶 1-β-D-Arabinofuranosylthymine

结构式

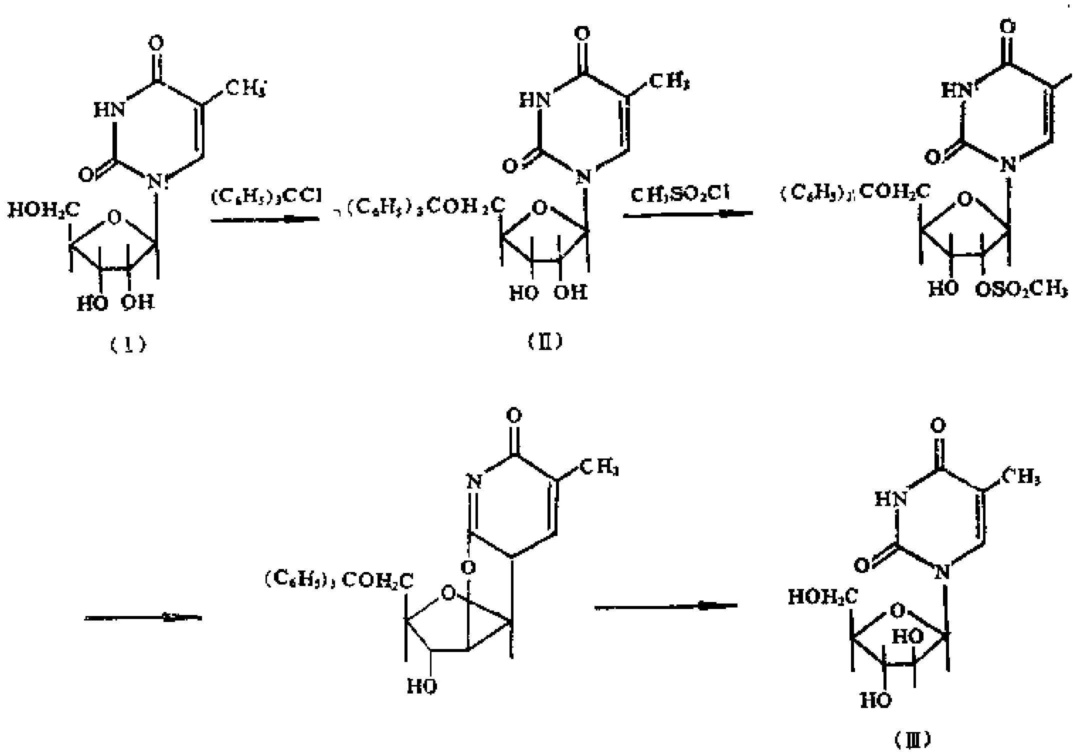


分子式 $C_{10}H_{14}N_2O_6$ **分子量** 258.23

理化参数 熔点238～242℃。$[\alpha]_{589}^{24}+93°$（$C=0.5$，水）。pK9.8（酸性基团）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$ nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$ nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$	$\frac{A_{290}}{A_{260}}$
1	268	10.0	236	0.61	0.85	0.36
7	268	10.0	236	0.61	0.85	0.36
12	269	7.9	245	0.69	0.77	0.22

制备方法[1]



6.0g(0.023mol)1-β-呋喃核糖基胸腺嘧啶(Ⅰ)溶于100mL无水吡啶中，加7.0g (0.025 mol) 三苯氯甲烷，置10℃一天后，于蒸气浴温热2小时，冷却，倒入冰水中，激烈搅拌得到黄色粘状物，倒去水分，粘状物溶于温热丙酮中，滤去残渣，滤液真空浓缩至固体，加500mL沸水，30分钟后过滤，沉淀用热乙醇结晶（枝丛状），过滤，用苯洗，干燥得6.2g (Ⅱ)，熔点153～160℃，经二次苯-乙醇和一次无水乙醇重结晶，得针状结晶，熔点155℃。将2g未经重结晶的(Ⅱ)溶于35mL的冷无水吡啶中，用0.8mL甲基磺酰氯处理，10℃放24小时，加1mL水，1小时后倒入搅拌的冰水中，得沉淀，水洗并干燥。将固体加入50mL的95%氨饱和甲醇中，室温过夜，溶液真空浓缩，加水并用硫酸酸化至pH1，回流2小时，冷却，滤去三苯甲醇，滤液用氢氧化钡除去硫酸根，滤去硫酸钡，滤液通二氧化碳至pH5，浓缩至约10mL，过滤，滤液浓缩至3mL，冷却，得0.15g针丛状产物(Ⅲ)。

参 考 文 献

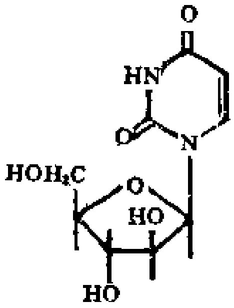
〔1〕 Fox, J. J. et al.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 79, 2775(1957).

海 绵 尿 苷　　Ⅱ-4(2)-0025

Spongouridine

别名　1-β-D-呋喃阿拉伯糖基尿嘧啶　1-β-D-Arabinofuranosyluracil

结构式

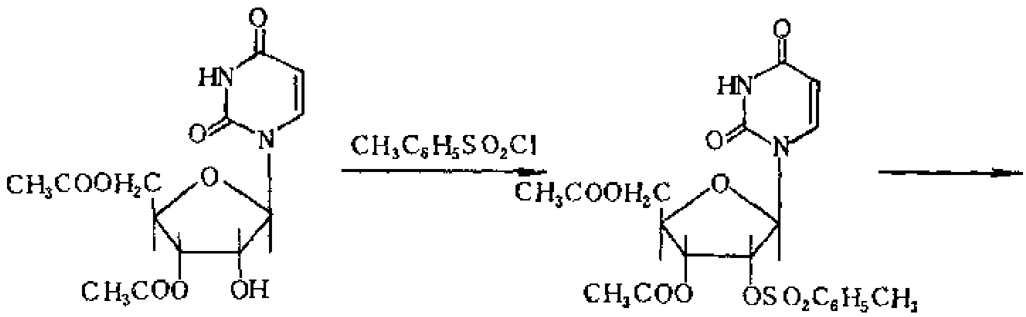


分子式 $C_9H_{12}N_2O_6$ **分子量** 244.20

理化参数 熔点222～224℃。$[\alpha]_D^{20}+13.1°$($C=0.63$，水)。pK 9.3（酸性基团）。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$ nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\lambda_{最小}$ nm
1	264	9.3	232
(水)	263	10.5	231
11.5	263	7.2	242
14	265	7.9	241

制备方法[1]



(Ⅰ) (Ⅱ)



(Ⅲ) (Ⅳ)

0.2g3',5'-O-二乙酰基尿苷(Ⅰ)和0.51g对甲苯磺酰氯溶于10mL无水吡啶,室温15分钟,倒入搅拌的冰块水中,2小时后用氯仿抽提,用碳酸氢钠和水分别洗抽提液,减压抽干,反复加乙醇蒸发除去残余吡啶,得黄色油状物,溶于乙醇,加活性炭过滤,将无色滤液浓缩,冷却,得0.21g蜡状固体(Ⅱ)。溶于15mL甲醇,加15mL饱和甲醇氨,室温过夜,抽去溶剂,用4mL乙醇研磨得固体,收集,用乙醇重结晶得0.12g无色棒状O^2,2'-环化尿苷(Ⅲ)。300mg(Ⅲ)溶于15mL 0.05mol/L的硫酸,100℃热1小时,冷却,通过氢氧型阴离子交换树脂,水洗,合并溶液减压抽干,溶于5mL热的无水甲醇,冷却,得112mg无色棱晶(Ⅳ)。

参 考 文 献

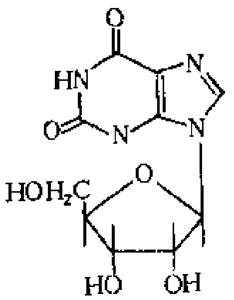
〔1〕 Brown, D. M. et al.: *J. Chem. Soc.*, 2388(1956).

黄 苷 Ⅱ-4(2)-0026

Xanthosine

别名 黄嘌呤核苷 Xanthine riboside

结构式



分子式 $C_{10}H_{12}N_4O_6$ **分子量** 284.23

理化参数 $[\alpha]_D^{20}$ −51.2°(C=8, 0.3mol/L氢氧化钠)。pK<2.5(碱性基团),5.7,~13.0(酸性基团)。紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$ nm	$\epsilon_{最大}\times10^{-3}$	$\epsilon_{260}\times10^3$	$\lambda_{最小}$ nm	A_{250}/A_{260}	A_{280}/A_{260}	A_{290}/A_{260}
3	235 263	8.4 8.95	8.7	217	0.76	0.28	0.03
8	248 278	10.2 8.9		223	1.30	1.13	0.61
14	252 276	8.6 9.3		230 260	1.12	1.16	0.59

制备方法

一[1]、5g(15.8mmol)2-巯基肌苷铵盐(见Ⅱ-4(1)-0022 N^2,N^2-二甲基鸟苷制备方法3.)溶于30mL水,用氢氧化铵调pH9.5,室温搅拌下加18g(158mmol)30%过氧化氢,2小时后加100mL 1mol/L氢氧化钠,回流1小时,用氢型阳离子交换树脂调pH4,过滤,滤液减压浓缩至约10mL,冰箱过夜,过滤,水中重结晶得2.1g(46.8%)黄苷。

二[2]、2g(7.74mmol)5-氨基-1-β-D-呋喃核糖基-4-咪唑甲酰胺溶于由1.2g金属钠和

40mL乙醇得到乙醇钠乙醇溶液中，搅拌下加4.57g（38.7mmol）碳酸二乙酯，高压灭菌器中120℃ 2小时，产生沉淀，加100mL水，用氢型阳离子交换树脂调pH4，过滤，减压浓缩得粗产物，水中重结晶得1.68g（74%）黄苷。

贮存 室温。

参 考 文 献

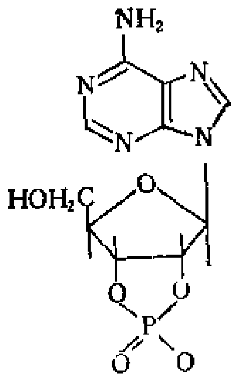
〔1〕 Yamazaki, A. et al.: *J. Org. Chem.*, 32,3032(1967).
〔2〕 Yamazaki, A. et al.: *J. Org. Chem.*, 32,3258(1967).

腺苷-2′,3′-环磷酸 Ⅱ-4(2)-0027

Adenosine2′,3′-Cyclic phosphate

别名 2′,3′-环腺苷酸 2′,3′-Cyclic AMP

结构式



分子式 $C_{10}H_{12}N_5O_6P$ **分子量** 329.22

理化性质 在室温易被稀酸和碱转变生成2′-腺苷酸和3′-腺苷的混合物。

制备方法[1] 1.0mmol腺苷2′(3′)-磷酸（游离酸）溶于含0.15mL重蒸三乙胺的2mL水中，加15mL甲醇和1.03g（5.0mmol）二环已基碳二亚胺（DCC），8小时后减压抽干，加100mL水和50mL乙醚，过滤除去二环已基脲，将水相蒸干，得浆状物，溶于10mL 95%乙醇（含0.15mL 1.0mmol三乙胺），加10mL 1mol/L氯化钙的95%乙醇溶液，加20mL乙醚沉淀腺苷-2′,3′-环磷酸，离心得白色沉淀。重复乙醇-乙醚处理，除去游离氯化钙，用无水乙醚洗涤，50℃，13.33Pa干燥过夜，得腺苷-2′,3′-环磷酸的无水钙盐。可用铵型阳离子交换树脂使之转变为铵盐。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

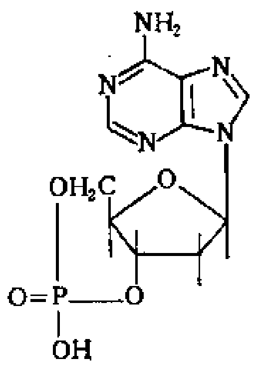
〔1〕 Smith, M. and Khorana, H. G.: *Methods in Enzymology*., 6,645(1963).

腺苷-3′,5′-环磷酸　Ⅱ-4(2)-0028

Adenosine 3′,5′-cyclic phosphate

别名　3′,5′-环腺苷酸，3′,5′-cyclic AMP，cAMP。

结构式



分子式　$C_{10}H_{12}N_5O_6P$　**分子量**　329.22

理化性质　自pH2的50%乙醇中结晶。溶于水。在1mol/L盐酸中100℃处理30分钟释放50%腺嘌呤。在0.2mol/L氢氧化钡中，100℃ 30分钟完全水解产生腺苷-3′-磷酸（3′-腺苷酸）和腺苷-5′-磷酸（5′-腺苷酸），两者比例为5:1。

制备方法

一[1]、200μmol腺苷-5′-硝基苯磷酸钠盐溶于18mL二甲亚砜，加2mL 1mole/L叔丁氧钾的叔丁醇溶液，20℃ 5分钟后用铵型阳离子交换树脂中和，稀氨水洗树脂，减压浓缩除去溶液中多余的氨，用DEAE-纤维素2.5×25cm柱层析分离纯化，直线梯度为1.5L水对1.5L碳酸氢三乙胺，收集主峰，蒸发除去碳酸氢三乙胺，得1.81μmol腺苷-3′,5′-环磷酸。

二[2]、1.0mmol 5′-AMP游离酸和293mg(1.0mmol)4-吗啉-*N*,*N*′-二环己基脒盐溶于含5mL水的25mL吡啶中，减压抽干，加无水吡啶反复蒸干多次，浆状物溶于100mL无水吡啶，于3小时内滴入预先加热至回流温度的412mg(2.0mmol)的二环己基碳二亚胺的100mL无水吡啶中，整个过程在无水条件下进行，再回流2小时，减压浓缩，加100mL水，用50mL乙醚抽提，滤去二环己基脲，浓缩至约10mL，用3.5×30cm碳酸型DEAE-纤维素分离纯化，直线洗脱梯度为2L 0.002mol/L碳酸氢三乙胺对2L 0.10mol/L碳酸氢三乙胺，pH 7.5，收集大峰腺苷-3′,5′-环磷酸部分，减压抽干，用水反复带去碳酸氢三乙胺，溶于2mL水和2mL乙醇，用1mol/L盐酸调pH1.0，冷却，离心，乙醇洗涤，干燥，得280mg含1分子水的腺苷-3′,5′-环磷酸。

贮存　0℃以下。

参 考 文 献

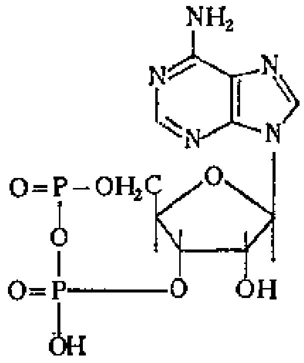
〔1〕 Borden, K. and Smith, M.: *J. Org. Chem.*, 31 3247(1966).

〔2〕 Smith, M and Khorana, H. G.: *Methods in Enzymology*., 6 647(1963).

腺苷-3',5'-焦磷酸　　Ⅱ-4(2)-0029

Adenosine 3',5'-pyrophosphate

结构式



分子式　$C_{10}H_{13}N_5O_9P_2$　　**分子量**　409.20

理化性质　0.1mol/L 氢氧化钡中，100℃ 15分钟完全水解为腺苷-3',5'-二磷酸，在1mol/L氢氧化钾中则相对稳定。

制备方法[1]　将ATP经氢氧化钡降解的产物（主要为2',5'-二磷酸腺苷和3',5'-二磷酸腺苷）转变为吡啶盐。0.089mol上述吡啶盐加0.2mmol三正辛胺和4mL 1.14mol/L二环己基碳二亚胺的无水吡啶溶液，振荡2天，离心除二环己基脲沉淀，上清液用3号滤纸层析分离，溶剂为异丙醇:水=7:3(V/V)，得到四条主要紫外吸收带，其中第2带($R_{5'-AMP}$=1.28)为腺苷-3',5'-焦磷酸（12%）。其余产物有2',5'-二磷酸腺苷、3',5'-二磷酸腺苷、5'-磷酸-2',3'-环磷酸腺苷、p¹,p²-5',5'-双(2',3'-环磷酸)腺苷等。

贮存　0℃以下。

参考文献

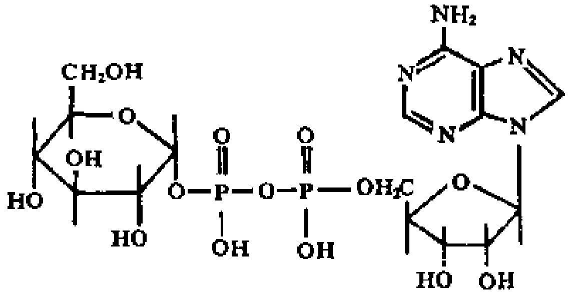
〔1〕 Lipkin, D, and Cook, W. H.; *Biochim. Biophys. Acta.*, 68,136(1963).

腺苷-5'-二磷酸-D-葡（萄）糖　　Ⅱ-4(2)-0030

Adenosine 5'-diphosphate D-glucose

别名　ADP葡（萄）糖　ADP-glucose; ADPG

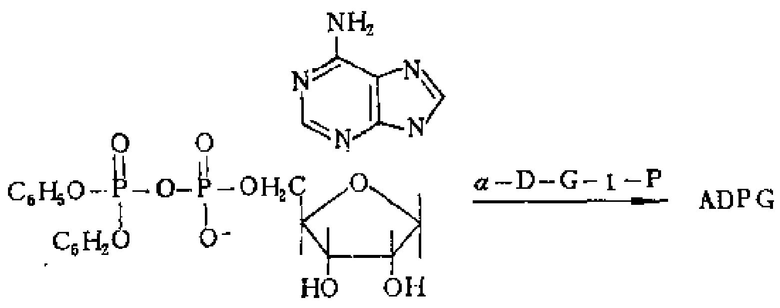
结构式



分子式 $C_{16}H_{25}N_5O_{15}P_2$ **分子量** 589.36

理化性质 溶于水；不溶于甲醇、丙酮、乙醚，在0.01mol/L盐酸中，100℃ 15分钟完全水解为ADP和D-葡萄糖。弱碱水解得到AMP和葡糖-1,2-环磷酸。

制备方法[1]



(Ⅰ) (Ⅱ)

0.3mL二苯磷酰氯和0.45mL三正丁胺加进含1mmol腺苷-5′-磷酸的7mL二氧六环中，室温2～3小时，减压除去溶剂，乙醚处理得沉淀 p^1-腺苷-5′-p^2-二苯焦磷酸（Ⅰ）倒去乙醚，加2mL二氧六环，减压浓缩除去乙醚和水气。于（Ⅰ）的0.5mL二氧六环中加1mmol α-D-葡糖-1-磷酸三正丁胺盐的1mL无水吡啶，室温过夜，减压抽去溶剂，用氯型阴离子交换树脂1.5×9cm柱层析分离纯化，用0.0075mol/L盐酸洗去5′-AMP和二腺苷焦磷酸，0.025mol/L氯化锂的0.01mol/L盐酸洗脱ADPG（Ⅱ）锂盐，得232mg，产率82%。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

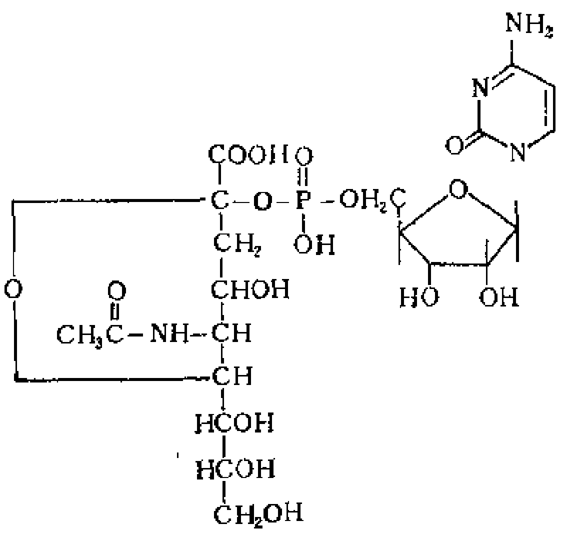
〔1〕 Michelson, A. M.: *Biochim. Biophys. Acta.*, 91. 1(1964).

胞苷-5′-磷酸-*N*-乙酰神经氨酸 Ⅱ-4(2)-003

Cytidine 5′-phosphate N-acetylneuraminic acid

别名 CMP唾液酸 CMP-sialic acid

结构式



分子式 $C_{20}H_{31}N_4O_{16}P$ **分子量** 614.47

理化性质 溶于水，不溶于甲醇、丙酮、乙醚。-16℃干燥放置，每天约5～10%分解为CMP和N-乙酰神经氨酸。0.01mol/L盐酸中，23℃5分钟有83%水解。紫外吸收光谱与CMP相似，$\lambda_{最大}$272nm(pH12)，280nm(pH2)。

制备方法[1] 脑膜炎双球菌（Neisseria meningitidis）抽提液经丙酮处理、硫酸铵沉淀和DEAE-纤维素柱层析分离得到的酶制剂，催化CTP与N-乙酰神经氨酸反应产生胞苷-5′-磷酸-N-乙酰神经氨酸。反应体积25mL，含58.0μmol CTP、12.9μmol N-乙酰神经氨酸、250μmol还原谷胱甘肽、375μmol乙酸镁和150μg酶蛋白，用2mol/L Tris调pH8.5，37℃保温2小时，加水稀释后，于4℃通过1.1×39cm DEAE-纤维素柱层析，用200mL 0.01mol/L Tris-乙酸和200mL 0.2mol/L的0.01mol/L Tris-乙酸的梯度、洗脱，收集胞苷-5′-磷酸-N-乙酰神经氨酸吸收峰。

从大肠杆菌[2]和哺乳动物[3]得到的酶催化相同反应。

贮存 0℃以下。

参考文献

〔1〕 Warren, L. and Blacklow, R. S.; *J. Biol. Chem.*, 237, 3527(1962).

〔2〕 Comb, P. G. et al.; *J. Amer. Chem. Soc.*, 81, 5513(1959).

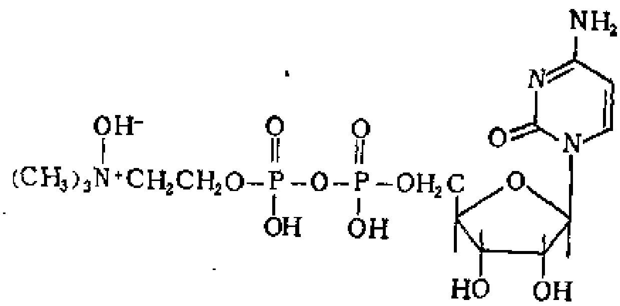
〔3〕 Roseman, S.; *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 48, 437(1962).

胞苷-5′-二磷酸胆碱 Ⅱ-4(2)-0032

Cytidine 5′-diphosphate choline

别名 CDP胆碱 CDP-Choline

结构式



分子式 $C_{14}H_{26}N_4O_{12}P_2$ **分子量** 506.35

理化性质 白色吸潮粉末。溶于水。0.5mol/L硫酸中，100℃18分钟50%水解为CMP和磷酸胆碱；40分钟后有7.5%总磷释放为无机磷。紫外吸收光谱与CMP相似，A_{280}/A_{260} 2.17。

制备方法[1] 120mg 5′-胞苷酸（CMP）游离酸和58.7mg磷酰胆碱溶于2mL水和14mL吡啶中，密封搅拌下加3.6g二环己基碳二亚胺（DCC），于室温搅拌2天，加入1.8g DCC，再搅拌2天，加入1.8g DCC，再搅拌3天，于半固态反应物加40mL水，摇荡，过滤，除去二环己基脲，水洗几次，合并滤液，用等体积乙醚抽提，水相通空气于40℃驱去乙醚，用

0.5mol/L氢氧化钾调pH8～9，加水稀释至100mL，用甲酸型2%交联度的阴离子交换树脂1×15cm柱层析分离纯化CDP胆碱。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

〔1〕 Kennedy, E. P.: *J. Biol. Chem.*, 222, 185(1956).

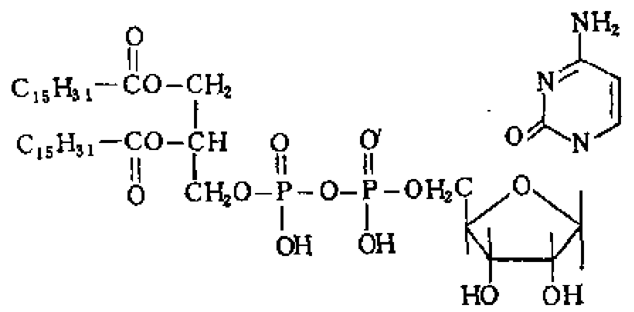
胞苷-5′-二磷酸二棕榈酰甘油酯

Ⅱ-4(2)-0033

Cytidine 5′-diphosphate dipalmitin

别名 CDP二棕榈酰甘油酯 CDP dipalmitin

结构式



分子式 $C_{44}H_{81}N_3O_{15}P_2$ **分子量** 952.09

理化性质 游离酸溶于三氯甲烷，室温易分解。二钾盐溶于水，0℃可保存数天。

制备方法[1] 600mg二棕榈酰-L-甘油磷酸和350mg CMP游离酸溶于44mL吡啶和6mL水，搅拌下加10g二环己基碳二亚胺40～45℃2天，加100mL水，离心除去二环己基脲，用100mL水洗，于温浊上清液缓慢加2.5g乙酸钡，冰箱过夜，离心得0.5g沉淀，溶于1mL 4mol/L盐酸和10mL甲醇以及10mL三氯甲烷混合液中，然后加50mL水，分出三氯甲烷相，水洗数次，用硫酸钠干燥，将三氯甲烷溶液通过10g硅酸柱层析分离，用三氯甲烷对甲醇梯度洗脱，约于含20%甲醇的三氯甲烷时洗出CDP-二棕榈酰甘油酯，抽干得61mg，溶于水，小心加2mol氢氧化钾和稍过量的乙酸钡，离心，水洗，干燥得CDP-二棕榈酰甘油酯钡盐。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

〔1〕 Kennedy, E. P.: *Methods in Enzymoly*, 6, 787(1963).

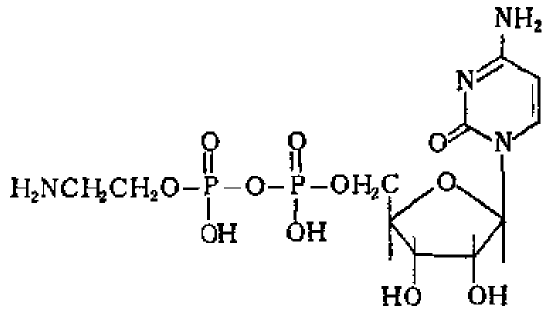
胞苷-5′-二磷酸乙醇胺

Ⅱ-4(2)-0034

Cytidine 5′-diphosphate ethanolamine

别名 CDP乙醇胺 CDP-ethanolamine

结构式



分子式 $C_{11}H_{20}N_4O_{11}P_2$ **分子量** 446.26

理化参数 紫外吸收数据

pH	λ最大 nm	λ最小 nm
2	278—280	242
13	270	251—253

制备方法[1] 用二环己基碳二亚胺将5'-胞苷酸(CMP)游离酸和磷酰乙醇胺缩合得到，操作过程同CDP胆碱（Ⅱ-4(2)-0032)。

贮存 0℃以下。

参考文献

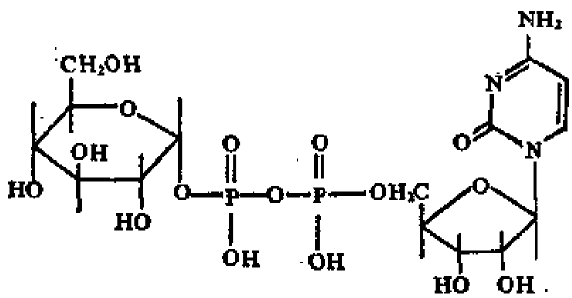
〔1〕 Kennedy, E. P.：*J. Biol. Chem.*, 222, 185(1956).

胞苷-5'-二磷酸-D-葡（萄）糖 Ⅱ-4(2)-0035

Cytidine 5'-diphosphate D-glucose

别名 CDP葡（萄）糖 CDP-glucose; CDPG

结构式



分子式 $C_{15}H_{25}N_3O_{16}P_2$ **分子量** 565.33

理化性质 0.01mol/L盐酸中，100℃10分钟水解得到CDP和D-葡萄糖。

制备方法[1] 参照胞苷-5'-二磷酸甘油（Ⅱ-4(2)-0036）和尿苷-5'-二磷酸-α-D-葡萄糖（Ⅱ-4(2)-0049）制备方法，用活化的胞苷-5'-磷酸吗啉的4-吗啉-N,N'-二环己基脒盐与D-葡糖-1-磷酸的单（三正辛胺）盐反应制备得到，用阴离子交换树脂分离纯化。

也可用酶法催化下列反应制备：CTP + G - 1 - P ⇌ CDPG + PP_i[2]

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

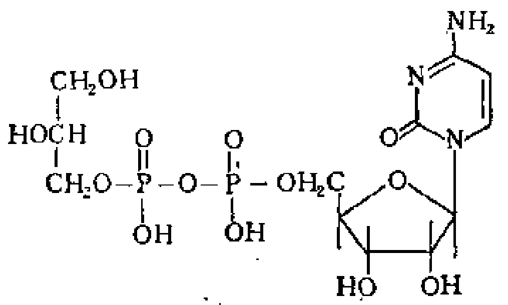
〔1〕 Roseman, S. et al. ; *J. Amer. Chem. Soc.*, 83,659(1961).
〔2〕 Ginsburg, V. et al. ; *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 7,1(1962).

胞苷-5′-二磷酸甘油　　Ⅱ-4(2)-0036

Cytidine 5′-diphosphate glycerol

别名　CDP甘油　CDP-glycerol。

结构式



分子式　$C_{12}H_{21}N_3O_{13}P_2$　　**分子量**　477.27

理化性质　在酸和碱中不稳定。1mol/L 盐酸中，100℃30分钟水解产生CMP和α-与β-磷酸甘油的混合物。浓氨100℃ 1小时则部分水解为CMP和甘油-1,2-环磷酸。磷酸甘油部分为L-α-构型。

制备方法[1]　0.5mmol DL-甘油-1-磷酸的单（三正辛铵）盐和0.2mmol 5′-胞苷-磷酸吗啉的4-吗啉-*N*,*N*′-二环己基脒盐在无水吡啶中反应四天，用氯型的阴离子交换树脂1×20cm柱层析分离，水洗后，用盐溶液梯度洗脱，梯度瓶分别为1500mL 0.003mol/L盐酸和1500mL含0.05mol/L氯化锂的0.003mol/L盐酸溶液，约在0.025mol/L氯化锂浓度时CDP甘油被洗脱，合并收集液，用氢氧化锂调pH4.5，抽干，加5mL甲醇和50mL丙酮，搅拌，加5mL乙醚，得沉淀，反复用甲醇-丙酮-乙酸处理除去氯根，沉淀室温干燥得100mg产物。用碳酸盐型的DEAE-纤维素柱层析纯化，洗脱梯度为0.005mol/L至0.20mol/L pH7.5的碳酸氢三乙胺，收集CDP甘油部分，加甲醇反复除去三乙胺，溶于5mL甲醇，加0.25mL 1mol/L氯化钙的乙醇溶液，加25mL丙酮产生白色沉淀，用乙醇（5mL）和丙酮（30mL）反复处理除净氯离子，室温真空干燥得80mg CDP甘油钙盐。

贮存　0℃以下。

参 考 文 献

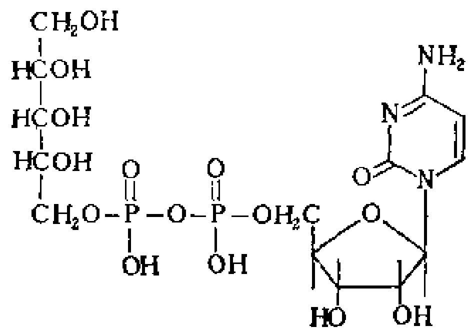
〔1〕 Roseman, S. et al. ; *J. Amer. Chem. Soc.*, 83, 659(1961).

胞苷-5′-二磷酸核糖醇　　Ⅱ-4(2)-0037

Cytidine 5′-diphosphate ribitol

别名　CDP核糖醇　CDP-ribitol

结构式



分子式 $C_{14}H_{25}N_3O_{15}P_2$　　分子量 537.32

理化性质　在酸和碱中非常不稳定。pH2 时，20℃ 18 小时19%被水解。在 8mol/L 氢氧化铵中，100℃ 30 分钟完全水解为 CMP 和核糖醇-4,5-环磷酸。核糖醇磷酸部分为D-构型。

制备方法[1]　260mg 核糖-5-磷酸（R-5-P）钡盐的水溶液通过氢型阳树脂柱，流出液和洗液减压蒸馏得胶状物，溶于 1mL 水，加 10mL 吡啶和 190mg 5′-胞苷酸（5′-CMP）的 2mL水和 10mL 吡啶溶液，混合，加 0.5mL 三正丁胺和12g二环已基碳二亚胺（DCC）的 20mL吡啶溶液，室温振荡30小时，加50mL冷水，滤去二环已基脲，水洗，合并滤液和洗液，

$$5'-\text{CMP}+\text{R-5-P}\xrightarrow{\text{DCC}}\text{CDP核糖}\xrightarrow{\text{NaBH}_4}\text{CDP核糖醇}$$

用乙醚抽提 3 次，赶去乙醚，调pH7.5，用氯型阴离子交换树脂（200～400目）2.6×70cm 柱层析分离纯化，500mL水洗后用直线梯度（400mL 0.0001 mol/L盐酸对 4600mL 0.025 mol/L氯化钙和0.0032mol/L盐酸）洗脱，合并CDP核糖主峰，用氢氧化钙溶液中和，<35℃减压浓缩，冻干，用乙醇抽提除去氯化钙，CDP核糖钙盐通过锂型阳离子交换树脂转变为 CDP核糖锂盐，加丙酮沉淀 2 次，得48mg产物。

10mg CDP核糖锂盐溶于pH 8.5的甘氨酸-氢氧化钠缓冲液，搅拌加入新鲜的7mg硼氢化钠，3℃ 1.5小时后，pH升至9.2，用2mol/L盐酸调pH3.8，加300mg活性炭搅拌3小时，装柱，用 pH3.8 稀盐酸洗，水洗，乙醇-水-1mol/L氨（50:49:1）于 0℃洗脱 CDP 核糖醇（80～90%），通过铵型阳离子交换树脂转变为CDP 核糖醇铵盐，产物为浅棕色极易吸潮的粉末。

贮存　0℃以下。

参 考 文 献

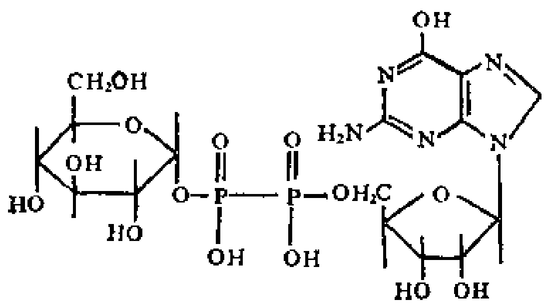
〔1〕 Baddiley, J. et al.: *J. Chem. Soc.*, 2192(1959).

鸟苷-5′-二磷酸-D-葡（萄）糖　　Ⅱ-4(2)-0038

Guanosine 5′-diphosphate D-glucose

别名　GDP葡（萄）糖　GDP-glucose，GDPG

结构式



分子式 $C_{16}H_{25}N_5O_{16}P_2$ **分子量** 605.36

理化性质 0.01mol/L 盐酸中，100℃15分钟完全水解为 GDP 和 D-葡萄糖，3小时后产生GMP、无机磷和D-葡萄糖。

制备方法

一[2]、75mg(0.21mmol) 5′-鸟苷酸的0.6mL水溶液加入0.16mL(1.4mmol)环己胺和0.5mL甲酰胺以及280mg(1.35mmol) 二环己基碳二亚胺的 2.0mL 叔丁醇溶液中，于 80℃ 10小时，室温过夜，加2mL水，滤去二环己基脲，水洗，合并滤液和洗液，用乙醚抽提三次，减压浓缩，加50mL丙酮，得白色沉淀，1小时后离心，用丙酮洗，干燥，再溶于1mL水，冻干得105mg白色粉末，产物主要是鸟苷-5′-*N*-环己基磷酰胺的*N*,*N*′,*N*″,-三环己基胍盐。

100mg上述胍盐的15mL无水吡啶溶液与400mg(0.65mmol)α-D-吡喃葡糖-1-磷酸的10mL无水吡啶混合，28℃放三天，减压蒸去吡啶，用水反复带走残余的吡啶，溶于10mL水，用0.1mol/L氢氧化锂溶液调pH7.5，经氯型阴离子交换树脂（200～400目）1×40cm 柱层析分离纯化，水洗后用梯度溶液洗脱（2L的0.0001mol/L盐酸对1L 0.4mol/L氯化锂和0.02mol/L盐酸溶液），合并GDPG主峰部分，用0.5mol/L氢氧化锂溶液调pH6.8，浓缩至2mL，加100mL丙酮-乙醇（9:1）得白色沉淀，离心，沉淀用丙酮-乙醇洗，干燥，得到28mg极易吸潮的灰白色粉末的GDPG锂盐。

二[2]、0.25mmol鸟苷-5′-磷酸转变为二苯磷酸酐化合物，得到P^1-鸟苷-5′-P^2-二苯焦磷酸，溶于0.4mL二氧六环，加1mmol α-D-葡糖-1-磷酸的0.75mL吡啶，室温3小时后，放置0℃过夜，减压抽去溶剂，加无水乙醚研磨，沉淀溶于10mL水，通过5×1.6cm的氯型强阴离子交换树脂柱，水洗，0.0075mol/L盐酸和0.0125mol/L氯化锂洗去微量鸟苷酸和过量的葡糖-1-磷酸，0.01mol/L盐酸和0.03mol/L洗脱GDPG，用三正丁胺中和，浓缩至小体积，溶于乙醇，减压浓缩至小体积，重复处理一次，转换为GDPG锂盐，加50mL丙酮沉淀，沉淀用丙酮洗2次，乙醚洗1次，得75mg成品。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

〔1〕 Baddiley, J. et al.：*J. Chem. Soc.*, 2574,(1964).

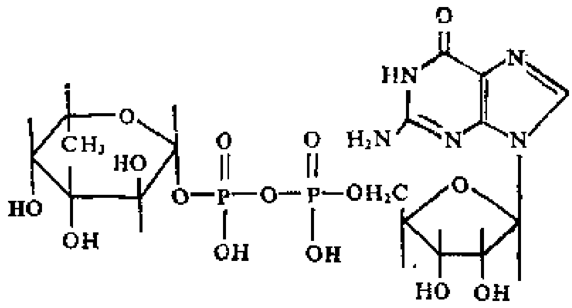
〔2〕 Michelson, A. M.：*Biochim. Biophys. Acta.*, 91,1(1964).

鸟苷-5′-二磷酸-L-岩藻糖 Ⅱ-4(2)-0039

Guanosine 5′-diphosphate L-fucose

别名 GDP岩藻糖 GDP-fucose

结构式



分子式 $C_{16}H_{25}N_5O_{15}P_2$ **分子量** 589.36

理化性质 溶于水，不溶于甲醇、丙酮、乙醚。0.01mol/L盐酸中，100℃ 10分钟完全水解为GDP和L-岩藻糖。

制备方法[1] 从大肠杆菌或产气气杆菌制备L-岩藻糖异构酶，催化GDP-D-甘露糖（Ⅱ-4(2)-0040）转变为GDP-L 岩藻糖：

$$GDP\text{-}D\text{-}甘露糖 + NADPH + H^+ \longrightarrow GDP\text{-}L\text{-}岩藻糖 + NAD^+$$

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

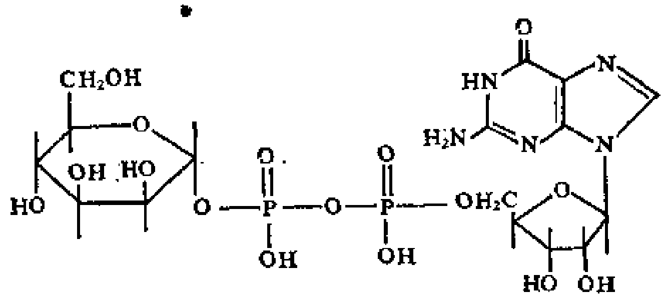
〔1〕 Ginsbury, V.; J. *Biol. Chem.*, 235, 2196(1960).

鸟苷-5'-二磷酸-D-甘露糖 Ⅱ-4(2)-0040

Guanosine 5'-diphosphate D-mannose

别名 GDP甘露糖 GDP-mannose; GDPM

结构式



分子式 $C_{16}H_{25}N_5O_{16}P_2$ **分子量** 605.36

理化性质 溶于水，不溶于甲醇、丙酮、乙醚。0.01mol/L盐酸中，100℃ 10分钟完全水解为GDP和D-甘露糖。

制备方法[1] 0.5mmol D-甘露糖-α-1-磷酸的双三正辛胺盐和0.2mmol鸟苷-5'-磷酸吗啉的4-吗啉-*N*, *N'*-二环已基脒盐在10mL吡啶中反应四天，用碳酸氢型的DEAE-纤维素2×25cm柱层析分离纯化，直线梯度为1500mL 0.005mol/L碳酸氢三乙胺(TEAB)与1500 mL 0.15mol/L TEAB，约于0.04mol/L TEAB浓度时GDP甘露糖被洗脱，收集GDP甘露

糖组分，真空浓缩，用水反复除去TEAB。然后用氯型阴离子交换树脂1×15cm柱层析纯化GDP甘露糖，梯度瓶分别为1500mL 0.003mol/L盐酸与1500mL含0.15mol/L氯化锂的0.003mol/L盐酸，GDP甘露糖在0.10mol/L氯化锂浓度时被洗脱，合并主峰部分，用氢氧化锂调pH5.0，蒸干，得92mg产物，用乙醇-丙酮-乙醚反复处理沉淀（见CDP甘油制备），除净氯根后室温干燥。

GDP甘露糖也可从面包酵母中分离得到，具体方法同UDPG(Ⅱ-4(2)-0049)制备[2]。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

〔1〕 Roseman, M. et al.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 83, 659 (1961).

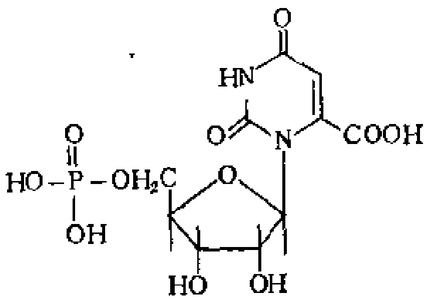
〔2〕 Leloir, L. F. and Cabib, E.: *Methods in Enzymology*., 6, 777 (1963).

乳清苷-5′-磷酸　　Ⅱ-4(2)-0041

Orotidine 5′-phosphate

别名 乳清苷酸 Orotidylic acid；尿苷酸-6-羧酸；6-羧基尿苷-5′-磷酸 6-Carboxyuridine 5′-phosphate

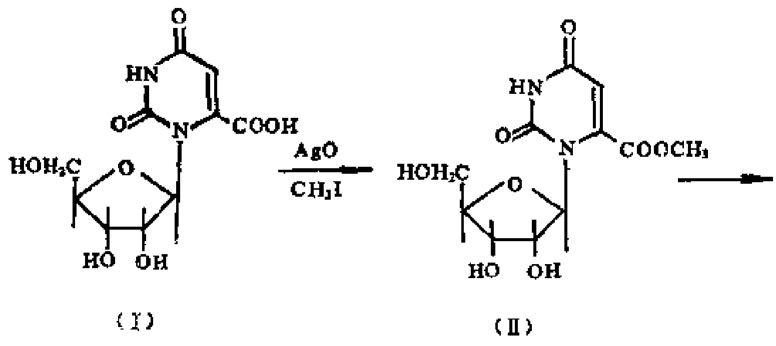
结构式

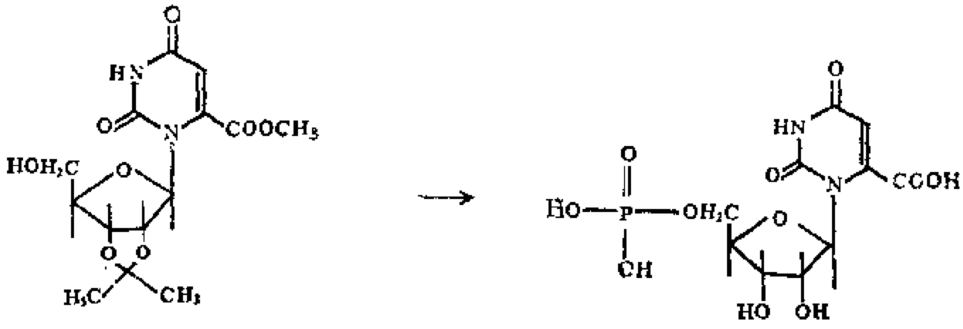


分子式 $C_{10}H_{13}N_2O_{11}P$　　**分子量** 368.19

理化参数 紫外吸收数据pH7，$\lambda_{最大}$266nm，A_{280}/A_{260}0.66。

制备方法[1]





(Ⅲ)　　　　　　　　　　(Ⅳ)

11.6g(30mmol) 的结晶乳清苷（Ⅰ)环己胺盐的水溶液，通过50mL氢型阳树脂，水洗，合并洗液（约200mL)，并加3.5g(15mmol) 的氧化银粉末，搅拌使团块分散，pH为3.5～4，再加3.5g氧化银，pH变为7.5，减压抽干，用甲醇-苯（1∶1）浮悬抽干，反复3次，油泵抽干，置五氧化二磷干燥。将灰色粉末悬浮于100mL甲醇和100mL碘甲烷中，在暗处激烈振荡过夜，得淡黄色反应物，过滤，甲醇洗，合并滤液，将沉淀抽干，溶于小体积甲醇，加助滤剂过滤，干燥得6.0g乳清苷甲酯（Ⅱ)粗品（易吸潮的白色泡沫)。上述不溶部分再用甲醇-碘甲烷处理，再得3.1g产物。将9.1g粗品（Ⅱ)置P_2O_5上干燥，浮悬于100mL含5mL2,2-二甲氧丙烷的无水丙酮中，加2g干的氢型阳树脂，室温振荡45分钟得完全溶液，放置3小时，将微棕色溶液迅速过滤；用干丙酮洗树脂，滤液抽干，得深咖啡色泡沫，溶于50mL丙酮，加0.5g活性炭脱色，过滤，用环己烷结晶，得7.6g白色针状物，熔点156～160℃，重结晶得6.3g（Ⅲ)。

将12g(36mmol) 的2-氰乙基磷酸钡盐（含二分子水)浮悬于含50g吡啶型阳树脂的100mL水中，搅拌至溶解，通过20mL相同的阳树脂柱，用200mL水洗，流出液真空抽干，用无水吡啶反复除水三次，溶于150mL无水吡啶中，加6.1g(18mmol)2′,3′-O-异丙叉乳清苷甲酯（Ⅲ）和14.9g（72mmol）二环已基碳二亚胺，置暗处振荡二天，加10mL水，1小时后再加100mL水，滤去不溶的二环已基脲，滤液浓缩成浆状，用水除吡啶，水-乙醚处理，除去乙醚后加6.3g(150mmol）氢氧化锂（含1水分子)，沸水浴加热1小时，冷却得磷酸锂沉淀，过滤，用0.01mol/L氢氧化锂洗，合并滤液，用氢型阳树脂调pH7，过滤，滤液浓缩至50mL，用氯型的阴离子交换树脂3×40cm柱层析分离纯化，收集主峰，加氯化钙干燥得4.6g乳清苷-5′-磷酸（Ⅳ）钙盐。

贮存　0℃以下。

参 考 文 献

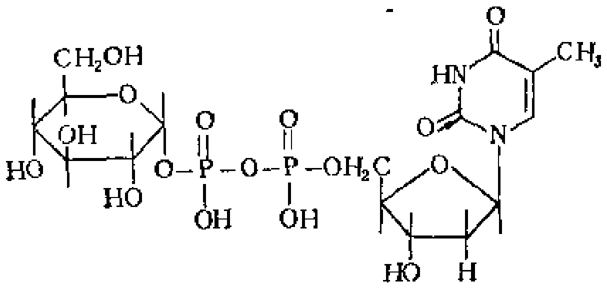
〔1〕 Moffatt, J G.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 85, 1118 (1963).

胸苷-5′-二磷酸-D-葡(萄)糖　　Ⅱ-4(2)-0042

Thymidine 5′-diphosphate D-glucose

别名　TDP葡(萄)糖　TDP-glucose；TDPG

结构式



分子式 $C_{16}H_{26}N_2O_{15}P_2$ **分子量** 564.35

理化性质 溶于水；不溶于甲醇、丙酮、乙醚。0.01mol/L盐酸中，100℃ 10分钟完全水解为TDP和D-葡萄糖。

制备方法[1] 3mmol的5′-TMP二铵盐通过氢型阳树脂转换为游离酸，然后，加3mmol三正辛胺，将混合物抽干，再溶于50mL二甲基甲酰胺，抽干，反复处理二次得无水盐，溶于15mL无水二氧六环，再加0.9mL重蒸的二苯磷酰氯和15mL三正辛胺，在干燥条件下激烈搅拌3小时，减压除去溶剂，加50mL乙醚均匀后置0℃放30分钟，沉淀为P¹-胸苷-5′-P²-二苯焦磷酸，溶于少量无水二氧六环，减压浓缩，加入6mmol α-D-葡糖-1-磷酸的单三正丁胺盐和6mL无水吡啶，激烈搅拌，在干燥条件下室温过夜，减压抽去溶剂，加50mL乙醚振荡，得TDPG吡啶盐沉淀，过滤，乙醚洗，将产物溶于50mL水，用氯型阴离子交换树脂（2%交联度）1.7×16cm柱层析分离纯化，先后用250mL水和0.01mol/L氯化锂的0.003mol/L盐酸溶液洗去葡糖-1-磷酸和5′-TMP，最后用0.075mol/L氯化锂的0.003mol/L盐酸洗脱TDPG，收集主峰，用三正丁胺中和，加丙酮沉淀，用丙酮、乙醚洗涤得1.40g产物，产率72%。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

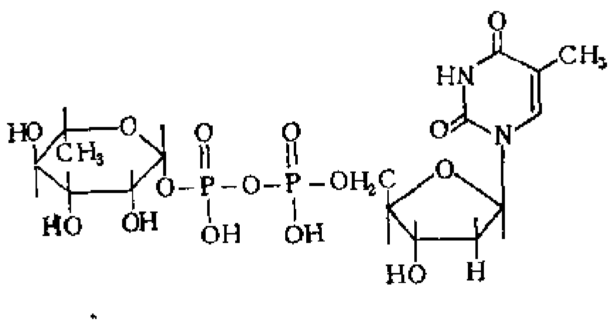
〔1〕 Okazaki, R. et al, : *J. Biol. Chem.*, 237, 3014 (1962).

胸苷-5′-二磷酸-L-鼠李糖 Ⅱ-4(2)-0043

Thymidine 5′-diphosphate L-rhamnose

别名 TDP鼠李糖 TDP-rhamnose

结构式



分子式 $C_{16}H_{26}N_2O_{15}P_2$ **分子量** 548.35

理化性质 溶于水，不溶于甲醇、丙酮、乙醚。0.01mol/L盐酸中，100℃ 10分钟完全水解为TDP和L-鼠李糖。

理化参数 紫外吸收数据

pH	$\lambda_{最大}$ nm	$\lambda_{最小}$ nm	$\frac{A_{250}}{A_{260}}$	$\frac{A_{280}}{A_{260}}$
0.1mol/L HCl	267	234～235	0.65	0.73
0.1mol/L NaOH	266	246	0.71	0.68

制备方法

一[1]、将35L嗜酸性乳杆菌（Lactobacillus acidophilus）培养液（含胸腺苷）得到的菌体，用冰冷的0.5mol/L高氯酸抽提，0.2mol/L高氯酸洗2次，合并溶液，用氢氧化钾中和，浓缩，离心，酸抽提液通过，1.25×16cm甲酸型强阴离子交换树脂（200～400目）柱，用500mL水、100mL 1mol/L甲酸、500mL 4mol/L甲酸洗后，用500mL 0.2mol/L的4mol/L甲酸溶液洗脱，得到TDP-L-鼠李糖吸收峰，收集合并，冻干除去甲酸和甲酸铵。粗产品用纸层析分离纯化，分析溶剂是异丁酸：1mol/L氢氧化铵（10：6）。洗脱后用活性炭处理，乙醇-氨水洗脱，减压浓缩，得20～25μmol TDP-L-鼠李糖。

从灰色链霉菌（Streptomyces griseus）的醇抽提液中也可分离出TDP-L-鼠李糖[2]（和TDP-D-甘露糖）

二、[3,4]从粪链球菌（Streptococcus faecalis）或绿脓杆菌（Pseudomonas aeruginosa）得到的粗酶抽提液可催化下列反应，从TTP经过TDP-葡萄糖产生TDP-鼠李糖：

$$\text{TTP} + \text{G-1-P} \longrightarrow \text{TDP-葡萄糖} + \text{焦磷酸}$$

$$\text{TDP-葡萄糖} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \longrightarrow \text{TDP-鼠李糖} + \text{NADP}^+$$

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

[1] Okazaki, R.: *Biochim. Biophys. Acta.*, 44, 478 (1960).

[2] Blumson, N. L. and Baddiley, J.: *Biochem. J.*, 81, 114 (1961).

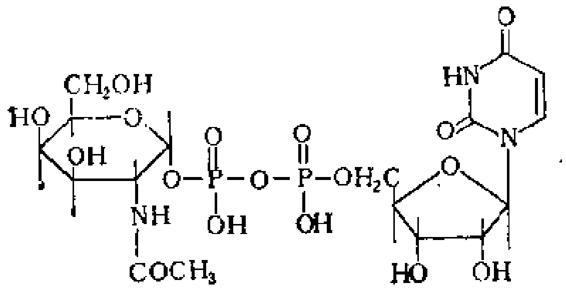
[3] Pazur, J. H. and Shuey, E. W.: *J. Biol. Chem.*, 236, 1780 (1961).

[4] Glaser, L. and Kornfeld, S.: *J. Biol. Chem.*, 236, 1795 (1961).

尿苷-5′-二磷酸-*N*-乙酰半乳糖胺 Ⅱ-4(2)-0044

Uridine-5′-diphosphate-*N*-acetylgalactosamine

结构式



分子式 $C_{17}H_{27}N_3O_{17}P_2$ **分子量** 607.36

理化性质 pH2 时，100℃ 15分钟水解为 UDP 和 *N*-乙酰半乳糖胺。锂盐的 $[\alpha]_D^{25}+81.7°$ ($C=0.8$，水)。

制备方法[1] 259mg半乳糖胺-1-磷酸加等当量碳酸氢钠，溶于含 3 mL 甲醇的 20mL 水中，冰冷搅拌下加0.47mL乙酸酐，用碳酸氢钠维持pH6.5至8.0，1 小时后过滤，滤液用氢型阳离子交换树脂除去钠离子，过滤，水洗树脂，合并滤液用乙醚抽提数次以除去乙酸，通过钾型阳离子交换树脂使产物转变为钾盐，用氢氧化钾调pH9.0，减压浓缩得浆状物，溶于甲醇，加乙醇-丙酮（1:1）使混浊，放置结晶，用乙醇洗结晶，干燥得 *N*-乙酰半乳糖胺-1-磷酸（35～40%）。将1.0mmol *N*-乙酰半乳糖胺-1-磷酸钾盐转变为双（三正辛胺）盐，加0.5mmol尿苷-5′-磷酰吗啉，溶于20mL无水吡啶，反应 5 天，经过常规处理后用氢型阴离子交换树脂分离纯化，用氯化锂的盐酸溶液梯度洗脱得65%的尿苷-5′-二磷酸-*N*-乙酰半乳糖胺。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

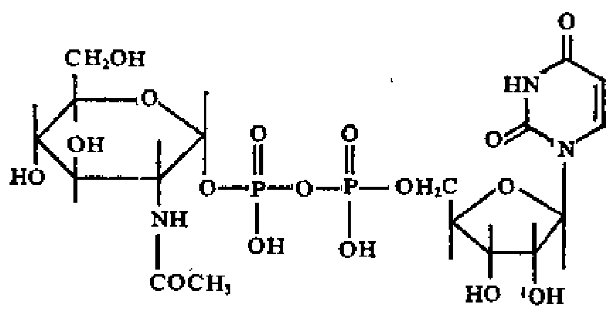
[1] Carlson, D. M. et al.; *Biochem.*, 3, 402 (1964).

尿苷-5′-二磷酸-*N*-乙酰葡糖胺 Ⅱ-4(2)-0045

Uridine-5′-diphosphate-*N*-acetylglucosamine

别名 UDPAG

结构式



分子式 $C_{17}H_{27}N_3O_{17}P_2$ **分子量** 607.36

理化性质 0.01mol/L盐酸中，100℃ 15 分钟水解为 UDP 和*N*-乙酰葡糖胺。1mol/L盐酸

100℃ 30分钟水解得到UMP、无机磷和N-乙酰葡糖胺。$[\alpha]_D^{25}+54.6°$(C=1.0 H_2O)。

制备方法[1] 595mg (2mmol)α-D-葡糖胺-1-磷酸单钾盐溶于含2mL甲醇的20mL水中，于0～5℃滴加1.0mL乙酸酐，加氢氧化钾维持pH7.0，搅拌90分钟后，通过4×30cm的氯型阴离子交换树脂，水洗后用盐酸分开葡糖胺-1-磷酸与N-乙酰葡糖胺-1-磷酸，收集后组分，用氢氧化钾调pH11，浓缩至浆状，加50mL甲醇，滤去氯化钾晶体，加丙酮制备468mg (60%)N-乙酰葡糖胺-1-磷酸单钾盐。将1mmole钾盐转变为双（三正辛胺）盐，加尿苷-5′-磷酰吗啉的4-吗啉-N,-N′-二环己基脒盐，溶于10mL无水吡啶中，室温5天后，减压抽干，用乙醚和含乙酸的水溶液研磨，水相用乙醚抽提，乙醚相用水反抽提，合并水溶液，用氯型阴离子交换树脂2×20cm柱层析分离纯化，洗脱直线梯度为2L 0.04mol/L氯化锂的0.003 mol/L盐酸，对2L 0.08mol/L氯化锂的0.003mol/L盐酸，0.055mol/L氯化锂时洗下尿苷-5′-二磷酸-N-乙酰葡糖胺，合并主峰组分，用氢氧化锂调pH6，30℃抽干，用甲醇-丙酮反复处理除去氯根，干燥得256mg (68%)尿苷-5′-二磷酸-N-乙酰葡糖胺双锂盐（含8分子水）。

UDPAG也可从面包酵母中分离得到，具体方法同UDPG(Ⅱ-4(2)-0049)制备方法。

贮存 6℃以下。

参 考 文 献

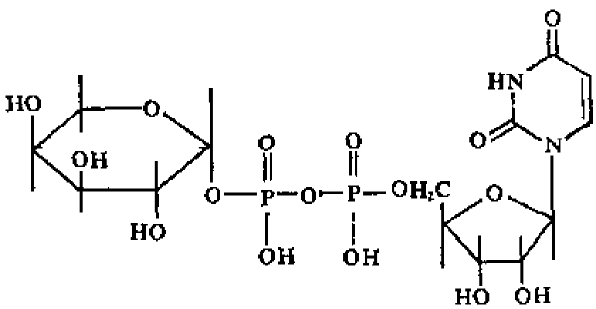
〔1〕 Roseman, S. et al.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 83, 659 (1961).
〔2〕 Leloir, L. F. and Cabib, E.: *Methods in Enzymology*, 6, 777 (1963).

尿苷-5′-二磷酸-L-阿拉伯糖 Ⅱ-4(2)-0046

Uridine 5′-diphosphate L-arabinose

别名 UDP阿拉伯糖 UDP-arabinose

结构式



分子式 $C_{14}H_{22}N_2O_{16}P_2$ **分子量** 536.29

理化性质 溶于水，不溶于甲醇、丙酮、乙醚。0.01mol/L盐酸中，100℃ 15分钟完全水解为UDP和-L-阿拉伯糖。

制备方法[1] UDP戊糖焦磷酸化酶制备：所有操作在0～4℃进行。100g 4～5天的绿豆种子加70mL pH7 0.01mol/L磷酸缓冲液匀浆1分钟，纱布过滤，18,000×g离心30分钟，收集55%至60%硫酸铵饱和度沉淀部分，溶于1～2mL pH7.5 0.1mol/L Tris缓冲液，对1L相同缓冲液透析过夜，18,000×g离心30分钟除去不溶物，上清含UDP戊糖焦磷酸化酶活性，于-10℃可保存数月。新鲜制备的UDP戊糖焦磷酸化酶制剂中含UDP-L-阿拉伯糖-4-

表异构酶活性，催化UDP-L-阿拉伯糖转变为UDP-D-木糖（Ⅱ-4(2)-0052），虽然该活性在酶保存过程中逐步丧失，但很难制得不完全含表异构酶的UDP戊糖磷酸化酶，故得到的UDP-L-阿拉伯糖中含有UDP-D-木糖，需进一步分离。UDP戊糖磷酸化酶也可从麦胚中制备。

为了使酶促反应有利于UDP-L-阿拉伯糖的生成，反应中加入无机焦磷酸酯酶。反应混合物组成为0.1mol/L UTP 1份，0.1mol/L β-L-阿拉伯糖-1-磷酸二环己铵盐[2] 1份，0.05 mol/L氯化镁0.5份，无机焦磷酸酯酶0.5份，绿豆UDP戊糖焦磷酸化酶2份，于37℃保温30～60分钟。少量制备可用pH3.6 0.2mol/L甲酸铵缓冲液电泳分离；大量制备则用阴离子交换树脂分离，用氯化钠-盐酸梯度洗脱，合并UDP-L-阿拉伯糖峰，活性炭处理，然后用纸电泳纯化。为了分开产物中的UDP-D-木糖，进行纸层析，溶剂为pH5.1乙酸铵缓冲液-95%乙醇-pH5EDTA铵盐（15:85:1），UDP-D-木糖移动比UDP-L-阿拉伯糖快。

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

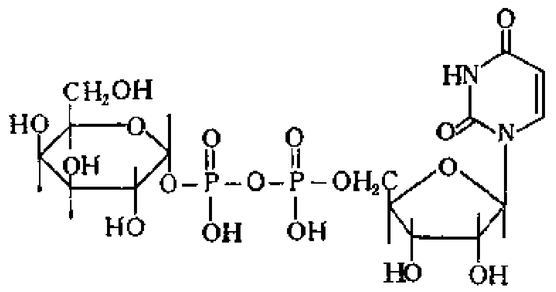
〔1〕 Feingold, D. S. et al.: *Methods in Enzymology.*, 6, 782 (1963).
〔2〕 Putman, E. W. and Hassid, W. Z.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 79, 5057 (1957).

尿苷-5′-二磷酸-D-半乳糖 Ⅱ-4(2)-0047

Uridine-5′-diphosphate-D-galactose

别名 UDPGal

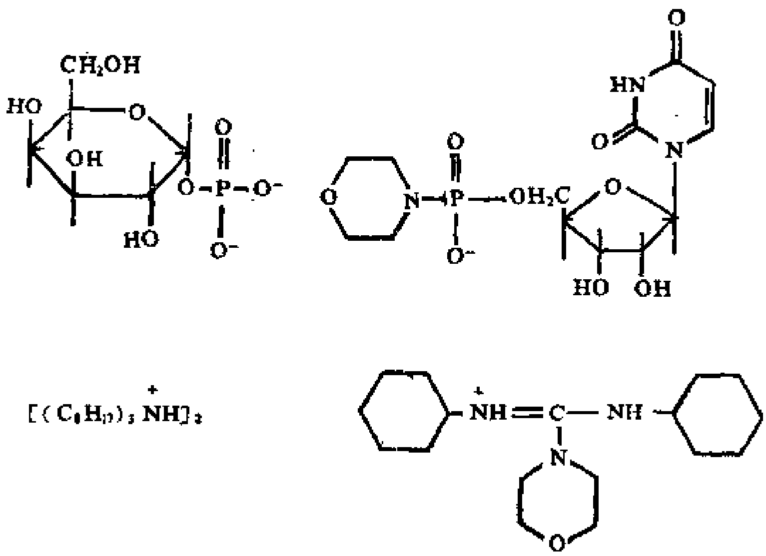
结构式



分子式 $C_{15}H_{24}N_2O_{17}P_2$ **分子量** 566.32

理化性质 溶于水、甲醇；不溶于丙酮。0.01mol/L盐酸中，100℃ 10分钟完全水解为UDP和D-半乳糖。$[\alpha]_D^{25}+42.9°$（$C=1.0$无水锂盐，水）。

制备方法[1] 1mmol预处理的α-D-半乳糖-1-磷酸的双(三正辛胺)盐(Ⅰ)和0.5mmol预处理的尿苷-5′-磷酰吗啉的4-吗啉-N, N′-二环己基脒盐(Ⅱ)溶于10mL无水吡啶，5天后，减压抽干，用乙醚和含乙酸（以中和三正辛胺和4-吗啉-N, N′-二环己基）的水研磨，水相



（Ⅰ）　　　　（Ⅱ）

用乙醚抽提，乙醚相用水反抽提，合并水溶液，用2×20cm的氯型阴离子交换树脂柱层析分离纯化，洗脱直线梯度为2L 0.04mol/L氯化锂的0.003mol/L盐酸对2L 0.08mol/L 氯化锂的0.003mol/L盐酸，0.06mol/L氯化锂时洗下尿苷-5′-二磷酸-D-半乳糖，用氢氧化锂调pH6，于30℃抽干，浆状物溶于10mL甲醇，加90mL丙酮，得绒毛状白色沉淀，用甲醇-丙酮反复处理除去氯根，干燥得232mg(70%)尿苷-5′-二磷酸半乳糖锂盐（含5分子水）。

贮存　0℃以下。

参 考 文 献

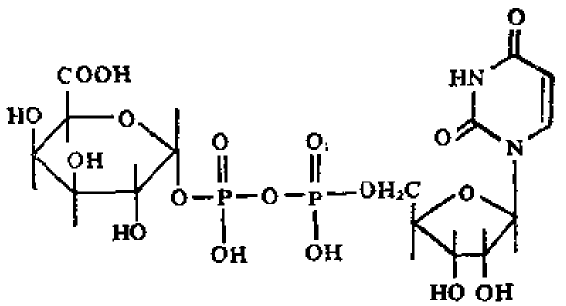
〔1〕 Roseman, S. et al.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 83, 659 (1961).

尿苷-5′-二磷酸-D-半乳糖醛酸　　Ⅱ-4(2)-0048

Uridine-5′-diphosphate-D-galacturonic acid

别名　UDP半乳糖醛酸　UDP-galacturonic acid

结构式



分子式　$C_{15}H_{22}N_2O_{18}P_2$　　**分子量**　580.30

理化性质　0.01mol/L盐酸中，100℃ 10分钟完全水解为UDP和D-半乳糖醛酸。0.1mol/L盐酸100℃ 90分钟或1mol/L盐酸100℃ 15分钟产生UMP、无机磷和D-半乳糖醛酸。

制备方法

一[1]、 5kg四天老的绿豆种子的抽提液通过甲酸型强阴离子交换树脂（200～400目）分离纯化，用甲酸铵梯度洗脱，于1.6mol/L甲酸铵浓度时洗下UDP-半乳糖醛酸（0.5μmol），收集洗脱紫外峰，活性炭处理后用pH3.6 0.2mol/L甲酸铵电泳纯化。

二[2]、从绿豆籽抽提液中分出粗酶制剂，催化下列反应：

UTP＋半乳糖醛酸-1-磷酸⇌UDP-半乳糖醛酸＋焦磷酸

反应条件为0.1mmol D-半乳糖醛酸-1-磷酸、0.02mmolUTP、0.01mmol氯化镁、0.04mmol pH7.5 Tris缓冲液和0.4mL酶制剂，总体积0.65mL，于37℃保温2小时，过活性炭柱，用乙醇-氨水洗脱，以氢型阳树脂中和，浓缩，电泳纯化（同制备方法1）。

贮存　0℃以下。

参 考 文 献

〔1〕 Neufeld, E. F. and Feingold, D. S. :*Biochim. Biophys. Acta.*, 53, 589 (1961).

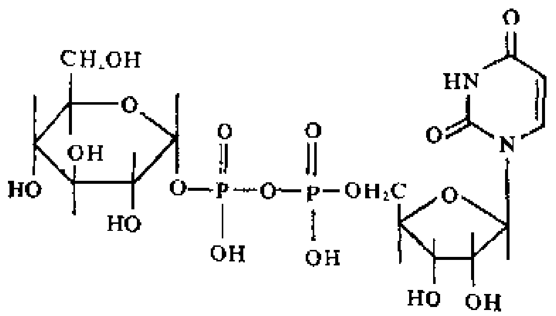
〔2〕 Feingold, D. S. et al. :*Archives Biochem. Biophys.*, 78, 401 (1961).

尿苷-5′-二磷酸-α-D-葡(萄)糖　　Ⅱ-4(2)-0049

Uridine-5′-diphosphate-α-D-glucose

别名　UDP葡(萄)糖　UDP-glucose; UDPG

结构式



分子式　$C_{15}H_{24}N_2O_{17}P_2$　　**分子量**　566.32

理化性质　溶于水、甲醇；不溶于丙酮、乙醚。钡盐极溶于水。0.01mol/L盐酸中，100℃10分钟完全水解为UDP和D-葡萄糖。1mol/L盐酸100℃ 15分钟水解得到UMP、无机磷和D-葡萄糖。弱碱处理（pH8.5，100℃ 2分钟或浓氨水0℃ 30分钟）生成UMP和葡糖-1,2-环磷酸。

制备方法

一、从面包酵母中分离[1]　将10kg面包酵母于36℃与预先温热的甲苯均匀混合，在35～37℃保温40分钟，加10L 95%的乙醇，混合物搅拌加热至沸腾，冰箱中过夜，加助滤剂过滤，滤液调pH至7（如出现混浊，可再过滤），用氯型阴离子交换树脂（200～400目）4.5×120cm柱层析分离纯化，直线梯度为0.02mol/L氯化钠的0.01mol/L盐酸和0.1mol/L氯化钠的0.01mol/L盐酸溶液，流速8ml/min，收集UDPG主峰溶液，用活性炭去盐，浓缩，加氢氧化钡中和，加乙醇沉淀，过滤，用乙醇、乙醚各洗2次，干燥得1.2mmol UDPG。

二、化学合成法[2] 0.30mmol预处理的尿苷-5′-磷酰吗啉的4-吗啉-N, N′-二环己基胍盐在5mL无水吡啶中与1.0mmol D-葡糖-α-1-磷酸的单（三正辛胺）盐反应三天，减压浓缩，用乙醚和乙酸水溶液处理（同尿苷-5′-二磷酸-D-半乳糖Ⅱ-4(2)-0047制备），水溶液通过氯型阴离子交换树脂2×10cm柱层析分离纯化，收集尿苷-5′-二磷酸-D-葡萄糖(UDPG)洗脱峰，合并，用氢氧化锂调pH4.0，30℃减压抽干，将白色固体溶于5mL甲醇加35mL丙酮和5mL乙醚得白色沉淀，甲醇-丙酮-乙醚处理多次除去氯根，用乙醚洗，干燥得142mg(70%)UDPG双锂盐（含6分子水）。

贮存 0℃以下。

参考文献

[1] Leloir, L. F. and Cabib, E. : *Methods in Enzymology*., 6, 777 (1963).

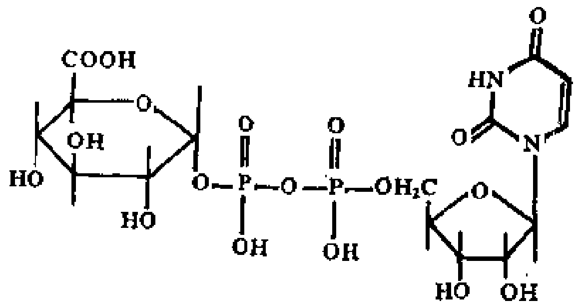
[2] Roseman, S. et al. : *J. Amer Chem Soc*., 83, 659 (1961).

尿苷-5′-二磷酸-D-葡糖醛酸 Ⅱ-4(2)-0050

Uridine-5′-diphosphate-D-glucuronic acid

别名 UDP葡糖醛酸 UDP-glucuronic acid

结构式



分子式 $C_{15}H_{22}N_2O_{14}P_2$ **分子量** 580.30

理化性质 溶于水，不溶于甲醇、丙酮。固态在室温下缓慢分解。0.01mol/L盐酸中，100℃15分钟水解主要得到UDP和葡糖醛酸，以及少量UMP和葡糖醛酸-1-磷酸。1mol/L盐酸100℃15分钟生成UMP、无机磷和葡糖醛酸。$[\alpha]_D^{25}+54.5°$($C=1.0$, 水)。

制备方法[1] 1mmol α-D-葡糖醛酸-1-磷酸（由α-D-葡糖-1-磷酸在铂催化下用氧氧化制备）和0.5mmol尿苷-5′-磷酰吗啉的4-吗啉-N, N′-二环己基胍盐溶于10mL吡啶，室温5天后浓缩至干，用乙醚和含乙酸的水溶液抽提，合并水溶液，用氯型阴离子交换树脂2×20cm柱层析分离提纯，洗脱用直线梯度为2L 0.1mol/L氯化锂的0.01mol/L乙酸锂缓冲液（pH5.5）和2L 0.2mol/L氯化锂的0.01mol/L乙酸锂缓冲液（pH5.5），洗下三个紫外吸收峰，用0.18mol/L的氯化锂时洗下尿苷-5′-二磷酸-D-葡糖醛酸，用氢氧化锂调pH6.0，浓缩至干，用甲醇/丙酮沉淀4次得到293mg(66%)产物。

用酶促合成方法[2]可从UTP与D-葡糖醛酸-1-磷酸制备UDP-D-葡糖醛酸（参考UDP-D-半乳糖醛酸制备方法2的反应条件——见Ⅱ-4(2)-0048）。

贮存 0℃以下。

参考文献

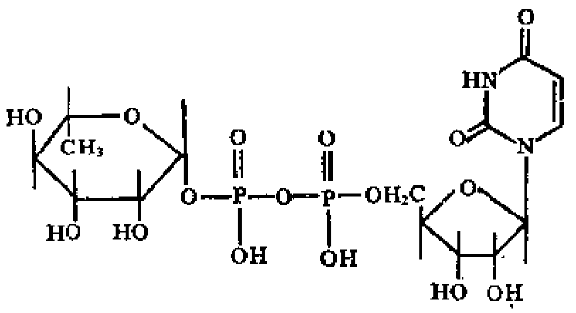
〔1〕 Roseman, S. et al. : *J. Amer. Chem, Soc.*, 83,659 (1961).
〔2〕 Feingold, D. S. et al. *Archives Biochem. Biophys.*, 78,401 (1958).

尿苷-5′-二磷酸-L-鼠李糖　　Ⅱ-4(2)-0051

Uridine-5′-diphosphate-L-rhamnose

别名 UDP鼠李糖　UDP-rhamnose

结构式



分子式 $C_{15}H_{24}N_2O_{16}P_2$　　**分子量** 550.32

理化性质 0.01mol/L盐酸中，100℃15分钟完全水解为UDP和L-鼠李糖。0.1mol/L盐酸100℃ 90分钟得到UMP、无机磷和L-鼠李糖。

制备方法[1] 烟叶在pH7.5Tris-HCl和巯基乙醇溶液中用海沙研磨，经氯化锰、硫酸铵处理、Sephadex G-25分离得到绿色部分酶制剂。0.1mL(约10mg酶蛋白)酶制剂，pH7.5 Tris-HCl(0.15mol/L)和巯基乙醇(0.05mol/L)，3μmol NADPH、0.5μmol UDP-D-葡萄糖(Ⅱ-4(2)-0049)，于37℃保温2小时，经pH3.6电泳和纸层析(展开溶剂是95%乙醇-1mol/L乙酸铵7:3)分离纯化。

从绿豆叶也可制备到相同的酶制剂[2]催化还原UDP-D-葡萄糖制备UDP-L-鼠李糖。而从肺炎链球菌(Streptococcus pneumoniae)的提取液中则能直接用氨型强阴离子交换树脂分离出UDP-L-鼠李糖[3]。

参考文献

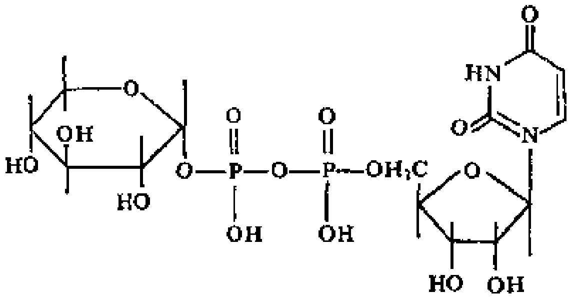
〔1〕 Barber, G. A.: *Archives Biochem. Biophys.*, 103, 276(1963).
〔2〕 Barber, G. A.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 8, 204(1962).
〔3〕 Smith, E. E. B. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, 33, 276(1959).

尿苷-5′-二磷酸-D-木糖　　Ⅱ-4(2)-0052

Uridine-5′-diphosphate-D-xylose

别名 UDP木糖　UDP-xylose

结构式



分子式 $C_{14}H_{22}N_2O_{16}P_2$ **分子量** 536.29

理化性质 0.01mol/L盐酸中，100℃10分钟完全水解为UDP和D-木糖。

制备方法[1] UDP戊糖焦磷酸化酶制备见Ⅱ-4(2)-0046。为了使反应有利于UDP-D-木糖的生成，于反应中加入无机焦磷酸酯酶。反应混合物包括：0.1mol/L UTP 1份，0.1mol/L α-D-木糖-1-磷酸二环己铵盐[2]1份，0.05mol/L氯化镁0.5份，无机焦磷酸酯酶0.5份，绿豆UDP戊糖焦磷酸酸化酶2份，于37℃保温30～60分钟。分离纯化方法同UDP-L-阿拉伯糖（Ⅱ-4(2)-0046）。

$$\text{UTP} + \alpha\text{-D-木糖} \rightleftharpoons \text{UDP-D-木糖} + \text{焦磷酸}$$

$$\text{焦磷酸} \longrightarrow \text{无机磷}$$

贮存 0℃以下。

参 考 文 献

〔1〕 Feingold, D. S. et al.: *Methods in Enzymology*., 6, 782(1963).

〔2〕 Putman, E. W. and Hassid, W. Z.: *J. Amer. Chem. Soc.*, 79, 5057(1957).

单位换算表

1mmHg＝133.322 Pa(帕)

1atm(大气压)＝101325 Pa

$1kg/cm^2 = 9.80665 \times 10^4$ Pa

1in(英吋)＝0.0254 m(米)

常用生化名词缩写或简称表

A；Ado　adenosine　腺（嘌呤核）苷

ACTH　adrenocorticotropic hormone　促肾上腺皮质激素

Ade　adenine　腺嘌呤

ADP　adenosine diphosphate　腺苷二磷酸

ADPG　adenosine diphosphate glucose　腺苷二磷酸葡糖

Ala；A　alanine　丙氨酸

AMP　adenosine monophosphate　腺苷一磷酸；腺苷酸

AMV　avian myeloblastosis virus　鸟类成髓细胞性白血病病毒

Arg；R　arginine　精氨酸

Asn；N　asparagine　天冬酰胺

Asp；D　aspartic acid　天冬氨酸

ATP　adenosine triphosphate　腺苷三磷酸

ATPase　adenosine triphosphatase　腺苷三磷酸酶

BAL　dimercaprol；dimercaptopropanol　二巯基丙醇

C；Cyd　cytidine　胞（嘧啶核）苷

cAMP　〔1〕cyclic adenosine monophosphate　环腺苷酸
〔2〕adenosine-3′,5′-monophosphate　环腺苷酸；腺苷-3′,5′-磷酸
〔3〕3′,5′-cyclic adenylic acid　3′,5′-环腺苷酸

Cbz；Z　carbobenzoxy-　苄氧羰基

cDNA　complementary DNA　互补（于RNA的）DNA；反转录DNA

CDP　cytidine diphosphate　胞苷二磷酸

CMC　carboxymethyl cellulose　羧甲基纤维素

CMP　cytidine monophosphate；cytidylic acid　胞苷一磷酸；胞苷酸

CoI　coenzyme I　辅酶I

CoII　coenzyme II　辅酶II

CoA　coenzyme A　辅酶A

ConA　concanavalin　伴刀豆球蛋白

CTP　cytidine triphosphate　胞苷三磷酸

Cys；C　cysteine　半胱氨酸

Cyt　cytosine　胞嘧啶

dA；dAdo　deoxyadenosine　脱氧腺苷

dAMP　deoxyadenylic acid　脱氧腺苷酸

dC；dCyd　deoxycytidine,cytosine deoxyriboside　脱氧胞苷

DCC；DCCI　dicyclohexylcarbodiimide　二环己基碳二亚胺

dCMP　deoxycytidylic acid　脱氧胞苷酸

DCU　dicyclohexylurea　二环己脲

DFP　diisopropyl fluorophosphate　二异丙基氟磷酸

dG；dGuo　deoxyguanosine　脱氧鸟苷

dGMP　deoxyguanylic acid　脱氧鸟苷酸

dIMP　deoxyinosine-5′-monophosphate　脱氧次黄苷酸；脱氧肌苷酸

dITP　deoxyinosine triphosphate　脱氧次黄苷三磷酸

DNA　deoxyribonucleic acid　脱氧核糖核酸

DNase　deoxyribonuclease　脱氧核糖核酸酶

DNP　〔1〕dinitrophenol　二硝基苯酚
〔2〕DNA-protein complex　DNA蛋白复合体

DOPA　3,4-dihydroxyphenylalanine　3,4-二羟苯丙氨酸；多巴

DPN　diphosphopyridine nucleotide　二磷酸吡啶核苷酸

ds DNA　double strand DNA　双链DNA

ds RNA　double strand RNA　双链RNA

DTT　dithiothreitol　二硫苏糖醇

EDTA　editic acid；ethylene diaminetetraacetic acid　乙二胺四乙酸

EGTA　ethyleneglycol-bis(β-aminoethyl ether)-N, N′-tetraacetic acid　乙二醇双乙胺醚-*N*,*N*′-四乙酸

FAD flavin adenine dinucleotide 黄素腺嘌呤二核苷酸

FMN flavin mononucleotide 黄素单核苷酸

FRF;FRH follicle stimulating hormone releasing factor 促滤泡素释放素

FSH follicle-stimulating hormone 促滤泡素

5-FU 5-fluorouracil 5-氟尿嘧啶

G;Guo guanosine 鸟（嘌呤核）苷

GAR glycinamide ribonucleotide 甘氨酰胺核苷酸

GDP guanosine diphosphate 鸟苷二磷酸

GH growth hormone 生长激素

GHRF growth hormone releasing factor 生长激素释放因子

Gln;Q glutamine 谷氨酰胺

Glu;E glutamic acid 谷氨酸

Gly;G glycine 甘氨酸

GMP guanylic acid 鸟苷酸

GOT glutamic-oxalacetic transaminase 谷（氨酸）草（酰乙酸）转氨酶

G6PD glucose-6-phosphate dehydrogenase 葡糖-6-磷酸脱氢酶

GPT glutamic-pyruvic transaminase 谷（氨酸）丙（酮酸）转氨酶

GRIF(SRIF) growth hormone release inhibitory factor 生长激素释放抑制因子

GSH glutathione 还原型谷胱甘肽

GSSG glutathione 氧化型谷胱甘肽

Gua guanine 鸟嘌呤

HCG human chorionic gonadotrophin 人绒毛膜促性腺激素

HEPES N-2-hydroxyethylpiperazine-*N*′-2-ethanesulfonic acid *N*-2-羟乙基哌嗪-*N*′-2-乙烷磺酸

His;H histidine 组氨酸

HnRNA heterogeneous nuclear RNA 不均一核RNA

5-HT 5-hydroxytryptamine; serotonin 5-羟色胺

Hyp hydroxyproline 羟脯氨酸

I;Ino inosine 次黄苷；肌苷

ICSH(LH) interstitial cell-stimulating hormone 促黄体成素；（促间质细胞激素）

Ile; I isoleucine 异亮氨酸

IMP inosinic acid 次黄苷酸；肌苷酸

ITP inosine triphosphate 次黄苷三磷酸

JH juvenile hormone 保幼激素

LAP leucine aminopeptidase 亮氨酸氨肽酶

LDH lactic dehydrogenase; lactate dehydrogenase 乳酸脱氢酶

Leu;L leucine 亮氨酸；白氨酸

LH(ICSH) luteinizing hormone 促黄体(生成）激素

LTH luteotropic hormone 催乳激素

Lys;K lysine 赖氨酸

Met;M methionine 甲硫氨酸；蛋氨酸

6MP 6-mercaptopurine 6-巯基嘌呤

mRNA messenger RNA 信使RNA；信息RNA

MSH melanocyte stimulating hormone; melanophore stimulating hormone 促黑（素细胞）激素

mtRNA mitochondrial RNA 线粒体RNA

NAD nicotinamide adenine dinucleotide 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸

NBT nitroblue tetrazolium 氮蓝四唑

NADP nicotinamide adenine dinucleotide phosphate 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸

NMN nicotinamide mononucleotide 烟酰胺单核苷酸

NPN non-protein nitrogen 非蛋白氮

ONPF 2-nitrophenyl-*β*-D-fucoside 2-硝基苯-*β*-D-岩藻糖苷

ONPG *O*-nitrophenyl-*β*-D-galactoside 邻硝基苯-*β*-D-半乳糖苷

PCMB *p*-chloromercuribenzoate 对氯高汞苯甲酸

PG prostaglandin 前列腺素

PGA pteroylglutamic acid 蝶酰谷氨酸；叶酸；维生素B_c

PHA phytoh(a)emagglutinin 植物凝集素

Phe;F phenylalanine 苯丙氨酸

PNA pentose nucleic acid 戊糖核酸

Poly(A) polyadenylic acid 多聚腺苷酸

Poly(U) polyuridylic acid 多聚尿苷酸

Poly I-C polyinosinic acid-polycytidylic acid 多聚肌苷酸多聚胞苷酸

ppGpp guanosine tetraphosphate 鸟苷四磷酸

pppGpp guanosine pentaphosphate 鸟苷五磷酸

Pro;P proline 脯氨酸

PRPP phosphoribosylpyrophosphate 磷酸核糖焦磷酸

PTC phenylthiocarbamyl- 苯氨基硫甲酰基

PTH 3-phenyl-2-thiohydantoin 乙内酰苯硫脲

PVP polyvinylpyrrolidone 聚乙烯吡咯烷酮

RNA ribonucleic acid 核糖核酸

RNP ribonucleoprotein 核糖核蛋白

rRNA ribosomal RNA 核蛋白体RNA；核糖体RNA

SAM *S*-adenosylmethionine *S*-腺苷甲硫氨酸

SDS sodium dodecyl sulfate 十二烷(基)硫酸钠

Ser;S serine 丝氨酸

snRNA stable nuclear RNA 核稳定RNA

SRF;SRH somatotropin releasing factor; somatotropin releasing hormone 生长激素释放因子；生长激素释放激素

SRIF somatotropin release inhibitory factor 生长激素（释放的）抑制因子

sRNA soluble RNA 可溶性RNA

T; dT deoxythymidine 脱氧胸苷

TAPS *N*-trihydroxymethylmethyla-minopropane sulfonic acid *N*-三-(羟甲基）甲基氨丙磺酸

TCA trichloroacetic acid 三氯乙酸

TDP thymidine diphosphate 胸苷二磷酸

TEMED *N*,*N*,*N*′,*N*′-tetramethyl ethylene diamine *N*,*N*,*N*′,*N*′-四甲基乙二胺

TEPP tetraethylpyrophosphate 焦磷酸四乙酯；特普

6TG 6-thioguanine 6-硫代鸟嘌呤；6-巯基鸟嘌呤

TH thyrotropic hormone 促甲状腺激素

Thr;T threonine 苏氨酸

TMP;dTMP deoxythymidylic acid 脱氧胸苷酸

TMV tobacco mosaic virus 烟草花叶病毒；烟草斑纹病毒

TONPG O-nitrophenyl-*β*-D-thiogalactoside 邻硝基苯-*β*-D-硫代半乳糖苷

TPN triphosphopyridine nucleotide 三磷酸吡啶核苷酸

TRF thyrotropin releasing factor 促甲状腺激素释放因子

TRIS;TRAM *N*-tris(hydroxymethyl)aminomethane *N*-三(羟甲基)氨基甲烷

tRNA transfer RNA 转移RNA

Trp;W tryptophan(e) 色氨酸

Tyr;Y tyrosine 酪氨酸

U;Urd uridine 尿(嘧啶核)苷

UDP uridine diphosphate 尿苷二磷酸

UDPG uridine diphosphate glucose 尿苷二磷酸葡糖

UMP uridine monophosphate; uridylic acid 尿苷酸；尿苷一磷酸

Ura uracil 尿嘧啶

UTP uridine triphosphate 尿苷三磷酸

Val;V valine 缬氨酸

X;Xao xanthosine 黄(嘌呤核)苷

Xan xanthine 黄嘌呤

XG 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-*β*-D-galactoside 5-溴-4-氯-3-吲哚-*β*-D半乳糖苷

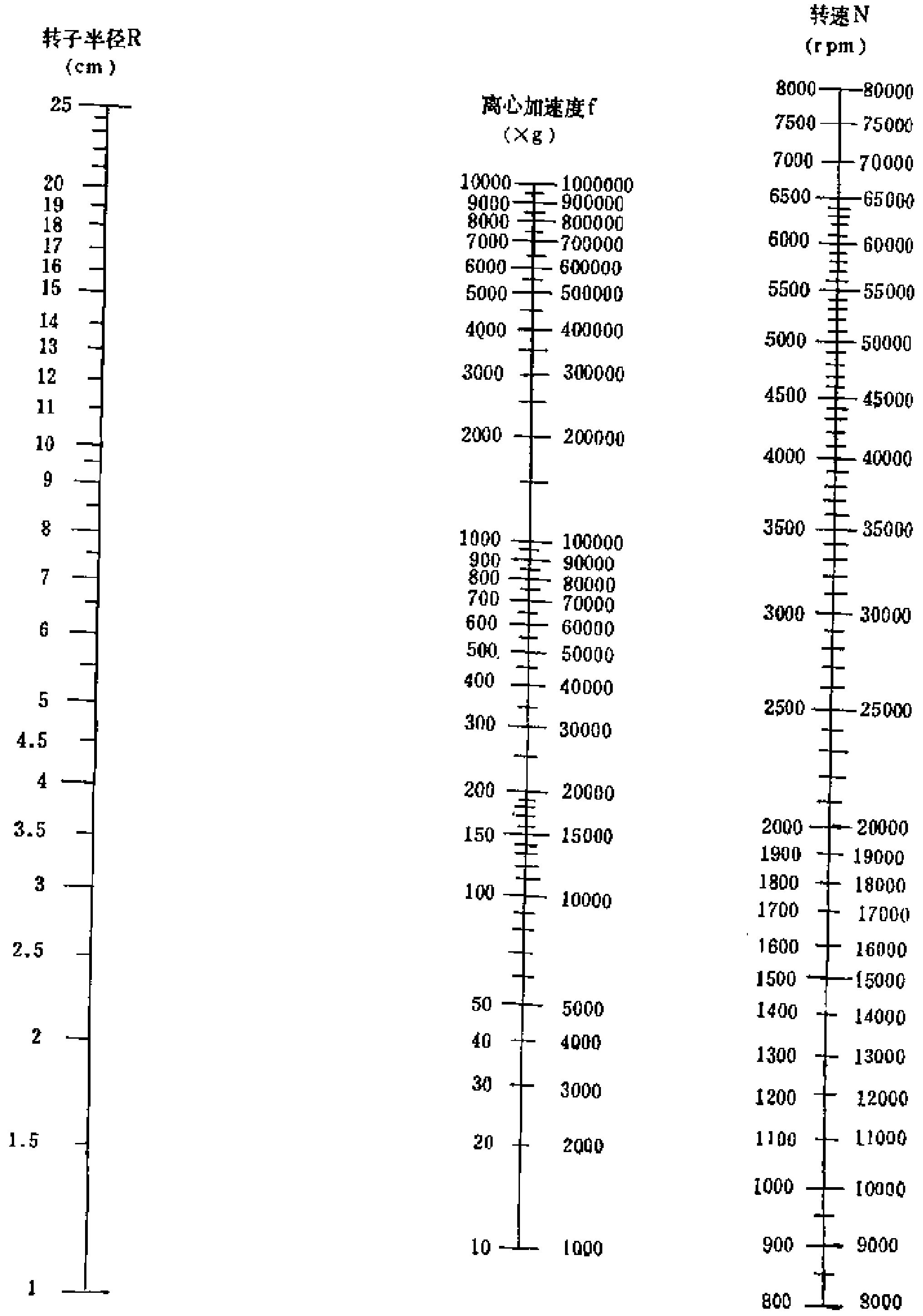
XMP xanthylic acid; xanthosine monophosphate 黄苷酸

离心加速度计算表

离心力场　$f(g) = 1118 \times 10^{-8} \times R(cm) \times N^2(rpm)$

R＝转子的半径(cm)

N＝转速（转/分钟，rpm）



符 号 表

- A 吸收率
- $[\alpha]$ 比旋光度
- C 百分浓度
- cpm 每分数计数（同位素脉冲）
- D- 构型；扩散常数，cm^2/sec
- d- 右旋；密度，g/cm^3
- E_I, E_1 同工酶
- F 果糖
- f/f_0 摩擦比
- G 葡萄糖
- g 重力加速度，自由落体加速度，m/s^2
- K_i 抑制常数
- K_m 米氏常数
- L- 构型
- l- 左旋
- λ 波长，nm
- ε 摩尔消光系数
- η 折光率
- pI 等电点
- p_i 无机磷
- pK 解离常数
- pK_a 酸性基团的解离常数
- pK_b 碱性基团的解离常数
- rpm 每分钟的转数
- s 沉降常数，S，$S=10^{-13}sec$
- U 单位
- v 微分比容，mL/g

中文名称笔画索引

说　明

1．本书中文索引按照第一字笔划的数目分先后排列，笔划数目相同的以笔顺横“一”、竖“丨”、撇“丿”、点“丶”、折“乛”序。第一字相同的名称，当字数不同时，少的在前，多的在后；字数相同时，再按照第二字的笔划和笔顺排列。其余类推。

2．如果中文名称的第一字（第二，第三字等）不是汉字而是代表基（根）位置或构型的阿拉伯数字或（和）外文，则该数字或（和）外文不作正式字数计算，而排列在相同的汉字下面。阿拉伯数字或外文的排列顺序是拉丁字母，阿拉伯数字，希腊字母。

3．本索引收入本分册全部试剂中文名称，（包括别名）。缩写名称均排列在中文索引的末尾一栏中，名称后的数字为试剂编号。

一　画

一　乙

二　画

二　丁　刀

三　画

三　干　己　马

四　画

无　天　木　犬　牛　反　丹　月　六　心　双　巴　水

五　画

丙　正　玉　去　甘　戊　甲　生　白　瓜　鸟　半　对　台　丝

六　画

亚　过　同　因　虫　肉　血　肌　多　色　次　异　纤

七　画

麦　苄　苏　赤　抗　连　呋　吡　别　伴　邻　谷　卵　免　间　尿　阿

八　画

环　松　苯　苹　软　叔　岩　乳　肽　鱼　单　限　组　细

九　画

枯 胃 氟 氢 重 顺 胆 胍 胞 亮 活

十　画

核 铁 氨 透 胰 胱 脂 胸 胶 脒 高 烟 海

十 一 画

麸 酚 副 萘 菠 黄 唾 甜 偶 假 脯 脬 脱 脲 章 麻 淀 羟 弹 蛋

十 二 画

琥 琼 植 棕 联 葡 硬 硝 硫 氰 氮 焦 番 巯

十 三 画

赖 酰 酪 碘 鼠 腺 溴 溶 羧

十 四 画

酵 酶 酸 聚 碱 碳 嘌 膀 精 蜜

十 五 画

醇 嘧 缬

十 六 画

醛 磺 凝 激

十 七 画

磷 糜

一　画

一磷酸鸟苷　Ⅲ-4(1)-0079
一磷酸尿苷　Ⅲ-4(1)-0085
一磷酸胞苷　Ⅲ-4(1)-0069
一磷酸腺苷　Ⅲ-4(1)-0064
CDP乙醇胺　Ⅲ-4(2)-0034
D-乙硫氨酸　Ⅲ-1(1)-0040
DL-乙硫氨酸　Ⅲ-1(1)-0038
L-乙硫氨酸　Ⅲ-1(1)-0039
N^4-乙酰胞苷　Ⅲ-4(1)-0010
N-乙酰-天冬素　Ⅲ-1(2)-0007
N-乙酰-D-丙氨酸　Ⅲ-1(2)-0003
N-乙酰-DL-丙氨酸　Ⅲ-1(2)-0001
N-乙酰-L-丙氨酸　Ⅲ-1(2)-0002
N-乙酰甘氨酸　Ⅲ-1(2)-0021
N-乙酰-L-白氨酸　Ⅲ-1(2)-0025
N^{α}-乙酰-L-鸟氨酸　Ⅲ-1(2)-0035
N-乙酰-DL-丝氨酸　Ⅲ-1(2)-0040
N-乙酰-L-丝氨酸　Ⅲ-1(2)-0041
O-乙酰-DL-丝氨酸　Ⅲ-1(2)-0042
O-乙酰-L-丝氨酸　Ⅲ-1(2)-0043
N^{α}-乙酰-D-色氨酸　Ⅲ-1(2)-0046
N^{α}-乙酰-DL-色氨酸　Ⅲ-1(2)-0044
N^{α}-乙酰-L-色氨酸　Ⅲ-1(2)-0045
N-乙酰-D-谷氨酸　Ⅲ-1(2)-0020
N-乙酰-DL-谷氨酸　Ⅲ-1(2)-0018
N-乙酰-L-谷氨酸　Ⅲ-1(2)-0019

N-乙酰-L-谷酰胺 Ⅲ-1(2)-0017
N^{α}-乙酰-DL-组氨酸 Ⅲ-1(2)-0023
N^{α}-乙酰-L-组氨酸 Ⅲ-1(2)-0022
N-乙酰-L-亮氨酸 Ⅲ-1(2)-0025
N-乙酰-DL-脯氨酸 Ⅲ-1(2)-0039
N-乙酰-D-蛋氨酸 Ⅲ-1(2)-0032
N-乙酰-DL-蛋氨酸 Ⅲ-1(2)-0030
N-乙酰-L-蛋氨酸 Ⅲ-1(2)-0031
N^{ε}-乙酰-D-赖氨酸 Ⅲ-1(2)-0028
N^{α}-乙酰-L-赖氨酸 Ⅲ-1(2)-0026
N^{ε}-乙酰-L-赖氨酸 Ⅲ-1(2)-0027
N-乙酰-L-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0048
N^{α}-乙酰-D-精氨酸 Ⅲ-1(2)-0006
N^{α}-乙酰-DL-精氨酸 Ⅲ-1(2)-0004
N^{α}-乙酰-L-精氨酸 Ⅲ-1(2)-0005
N-乙酰-D-缬氨酸 Ⅲ-1(2)-0052
N-乙酰-DL-缬氨酸 Ⅲ-1(2)-0050
N-乙酰-L-缬氨酸 Ⅲ-1(2)-0051
乙酸硫激酶 Ⅲ-2(1)-0002
2-乙氨基亚磺酸 Ⅲ-1(2)-0108
N-乙酰-D-天冬氨酸 Ⅲ-1(2)-0010
N-乙酰-DL-天冬氨酸 Ⅲ-1(2)-0008
N-乙酰-L-天冬氨酸 Ⅲ-1(2)-0009
N-乙酰-L-天冬酰胺 Ⅲ-1(2)-0007
N-乙酰正白氨酸 Ⅲ-1(2)-0034
N-乙酰正亮氨酸 Ⅲ-1(2)-0034
N-乙酰-L-半胱氨酸 Ⅲ-1(2)-0011
N-乙酰-D-甲硫氨酸 Ⅲ-1(2)-0032
N-乙酰-DL-甲硫氨酸 Ⅲ-1(2)-0030
N-乙酰-L-甲硫氨酸 Ⅲ-1(2)-0031
N^{α}-乙酰-L-色氨酰胺 Ⅲ-1(2)-0047
N-乙酰-L-谷氨酰胺 Ⅲ-1(2)-0017
N-乙酰-D-苯丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0038
N-乙酰-DL-苯丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0036
N-乙酰-L-苯丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0037
乙酰胆碱酯酶 Ⅲ-2(1)-0001
α-乙酰-D-氨基丙酸 Ⅲ-1(2)-0003
α-乙酰-DL-氨基丙酸 Ⅲ-1(2)-0001
α-乙酰-L-氨基丙酸 Ⅲ-1(2)-0002
N-乙酰胺基乙酸 Ⅲ-1(2)-0021
N-乙酰-L-羟脯氨酸 Ⅲ-1(2)-0024
N-乙酰-D-碘珊氨酸 Ⅲ-1(2)-0014
N-乙酰-DL-碘珊氨酸 Ⅲ-1(2)-0012
N-乙酰-L-碘珊氨酸 Ⅲ-1(2)-0013
D-S-乙基高半胱氨酸 Ⅲ-1(1)-0040
DL-S-乙基高半胱氨酸 Ⅲ-1(1)-0038
L-S-乙基高半胱氨酸 Ⅲ-1(1)-0039
N-乙酰-3,5-二碘-D-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0014
N-乙酰-3,5-二碘-DL-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0012
N-乙酰-3,5-二碘-L-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0013
N^{α}-乙酰-L-鸟粪氨基酸 Ⅲ-1(2)-0035
N-乙酰-DL-组织氨基酸 Ⅲ-1(2)-0023
N-乙酰-L-组织氨基酸 Ⅲ-1(2)-0022
α-乙酰-D-氨基丁二酸 Ⅲ-1(2)-0010
α-乙酰-DL-氨基丁二酸 Ⅲ-1(2)-0008
α-乙酰-L-氨基丁二酸 Ⅲ-1(2)-0009
D-α-乙酰氨基异戊酸 Ⅲ-1(2)-0052
L-α-乙酰氨基异戊酸 Ⅲ-1(2)-0051
α-乙酰-D-氨基琥珀酸 Ⅲ-1(2)-0010
α-乙酰-DL-氨基琥珀酸 Ⅲ-1(2)-0008
α-乙酰-L-氨基琥珀酸 Ⅲ-1(2)-0009
D-2-乙酰胺基戊二酸 Ⅲ-1(2)-0020
DL-2-乙酰胺基戊二酸 Ⅲ-1(2)-0018
L-2-乙酰胺基戊二酸 Ⅲ-1(2)-0019
DL-α-乙酰胺基异戊酸 Ⅲ-1(2)-0050
N-乙酰胺基苯丙酸 Ⅲ-1(2)-0036
N-乙酰胺基苯丙酸 Ⅲ-1(2)-0037
N-乙酰胺基苯丙酸 Ⅲ-1(2)-0038
S-乙酰辅酶A合成酶 Ⅲ-2(1)-0002
N-α-乙酰-DL-蛋白氨基酸 Ⅲ-1(2)-0004
N^{α}-乙酰-L-蛋白氨基酸 Ⅲ-1(2)-0005
N-乙酰-3-巯基丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0011
N-乙酰-3-巯基-D-缬氨酸 Ⅲ-1(2)-0033
N-乙酰-L-酪氨酸乙酯 Ⅲ-1(2)-0049
乙酸对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0051
乙酸邻硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0050
N-乙酰-3,5-二硝基-L-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0015
乙酰-DL-甲硫氨基丁酸 Ⅲ-1(2)-0030
乙酰氢化吡咯甲酸 Ⅲ-1(2)-0039
D-6-乙酰氨基-2-氨基己酸 Ⅲ-1(2)-0028
L-2-乙酰氨基-6-氨基己酸 Ⅲ-1(2)-0026
L-6-乙酰氨基-2-氨基己酸 Ⅲ-1(2)-0027
L-2-乙酰氨基-5-氨基戊酸 Ⅲ-1(2)-0035
DL-2-乙酰氨基-3-羟基丙酸 Ⅲ-1(2)-0040
L-2-乙酰氨基-3-羟基丙酸 Ⅲ-1(2)-0041
N-乙酰-β-氨基葡糖萘酚AS-LC Ⅲ-2(2)-0023
L-2-乙酰胺基戊酰氨酸 Ⅲ-1(2)-0017
D-2-N-乙酰胺基-β-吲哚丙酸 Ⅲ-1(2)-0046

DL-α-N-乙酰胺基-β-吲哚丙酸 Ⅲ-1(2)-0044
L-α-N-乙酰胺基-β-吲哚丙酸 Ⅲ-1(2)-0045
L-α-乙酰胺基-β-巯基丙酸 Ⅲ-1(2)-0011
乙酸二辅酶A连接酶〔产生AMP〕 Ⅲ-2(1)-0002
N-乙酰-L-对羟基苯丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0048
N-乙酰-D-穿心排草氨基酸 Ⅲ-1(2)-0052
N-乙酰-DL-穿心排草氨基酸 Ⅲ-1(2)-0050
N-乙酰-L-穿心排草氨基酸 Ⅲ-1(2)-0051
N-乙酰-D-α-氨基氢化肉桂酸 Ⅲ-1(2)-0038
N-乙酰-DL-α-氨基氢化肉桂酸 Ⅲ-1(2)-0036
N-乙酰-L-α-氨基氢化肉桂酸 Ⅲ-1(2)-0037
L-乙酰胺基吲哚-3-丙酰胺 Ⅲ-1(2)-0047
N-乙酰-4-羟基吡咯烷-2-羧酸 Ⅲ-1(2)-0024
N-乙酰-3,5-二硝基-L-酪氨酸乙酯 Ⅲ-1(2)-0015
N-乙酰-(3,5-二碘-4-羟基)-苯丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0014
N-乙酰-DL-β-(3,5-二碘-4-羟基)苯丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0012
N-乙酰-L-β-(3,5-二碘-4-羟基)苯丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0013
N^{α}-乙酰-L-赖氨酸甲酯盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0029
N-乙酰-L-β-(3,5-二硝基-4-羟基)苯丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0015
N-乙酰-L-3-(对羟基苯)丙氨酸乙酯 Ⅲ-1(2)-0049
N-乙酰-L-苯丙氨酸对硝基苯胺 Ⅲ-2(2)-0001
α-乙酰氨基-γ-L-乙酰氨基丁二酸 Ⅲ-1(2)-0007
N-乙酰氨基-β-羟基-3,5-二硝基苯丙酸甲酯 Ⅲ-1(2)-0016

二 画

二氢尿苷 Ⅲ-4(1)-0020
5,6-二氢尿苷 Ⅲ-4(1)-0020
N^{2}, N^{2}-二甲基鸟苷 Ⅲ-4(1)-0022
N^{6}, N^{6}-二甲基腺苷 Ⅲ-4(1)-0021
5,6-二氢尿嘧啶 Ⅲ-4(1)-0003
DL-2,4-二氨基丁酸 Ⅲ-1(1)-0036
L-2,4-二氨基丁酸 Ⅲ-1(1)-0037
α,γ-二氨基丁酸 Ⅲ-1(2)-0083
α,γ-二氨基丁酸 Ⅲ-1(2)-0084
D-2,5-二氨基戊酸 Ⅲ-1(1)-0089
DL-2,5-二氨基戊酸 Ⅲ-1(1)-0087
L-2,5-二氨基戊酸 Ⅲ-1(1)-0088
2,6-二羟基嘌呤 Ⅲ-4(2)-0014
2,4-二羟基嘧啶 Ⅲ-4(1)-0009
2,2-二硫代乙胺 Ⅲ-1(2)-0080
3,5-二碘-DL-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0090
3,5-二碘-L-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0089
3,5-二溴-L-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0085
二磷酸鸟苷 Ⅲ-4(1)-0076
二磷酸尿苷 Ⅲ-4(1)-0081
二磷酸胞苷 Ⅲ-4(1)-0066
二磷酸腺苷 Ⅲ-4(1)-0061
二丁酸酚酞酯 Ⅲ-2(2)-0073
7,9-二甲基鸟嘌呤 Ⅲ-4(2)-0004
1,N^{6}-二甲基腺嘌呤 Ⅲ-4(2)-0003
5,6-二氢-5-甲基尿苷 Ⅲ-4(1)-0019
Δ'-二氢吡咯-5-羧酸 Ⅲ-1(2)-0123
5,6-二氢胸腺嘧啶 Ⅲ-4(2)-0002
DL-2,4-二氨基正丁酸 Ⅲ-1(2)-0084
L-2,4-二氨基正丁酸 Ⅲ-1(2)-0083
3,3'-二甲氧基联苯胺 Ⅲ-2(2)-0025
5,6-二氢-5-甲基尿嘧啶 Ⅲ-4(2)-0002
5,6-二氢核糖基胸苷 Ⅲ-4(1)-0019
β-(3,4-二羟基苯)-L-丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0086
CDP二棕榈酰甘油酯 Ⅲ-4(2)-0033
N^{α},N^{im}-二-2,4-二硝基苯基-L-组氨酸 Ⅲ-1(2)-0218
N^{α}, N^{α}-二-2,4-二硝基苯基胱氨酸 Ⅲ-1(2)-0214
N^{α}, N^{ε}-二-2,4-二硝基苯基-L-赖氨酸 Ⅲ-1(2)-0221
3,3'-二甲氧基-〔1,1'-联苯〕-4,4'-二胺 Ⅲ-2(2)-0025
2,2'-二氨基二乙基二硫 Ⅲ-1(2)-0080
2,6-二氨基-5-别羟基己酸 Ⅲ-1(2)-0105
1-(3,4-二羟苯基)-2-氨基乙醇 Ⅲ-1(2)-0119
N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0210
N^{α}-2,4-二硝基苯基甘氨酸 Ⅲ-1(2)-0217
N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-白氨酸 Ⅲ-1(2)-0223
N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-丝氨酸 Ⅲ-1(2)-0227
N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-色氨酸 Ⅲ-1(2)-0229
N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-苏氨酸 Ⅲ-1(2)-0228
N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-谷氨酸 Ⅲ-1(2)-0216
N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-组氨酸 Ⅲ-1(2)-0219

N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-亮氨酸　Ⅲ-1(2)-0223
N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-脯氨酸　Ⅲ-1(2)-0226
N^{ϵ}-2,4-二硝基苯基-L-赖氨酸　Ⅲ-1(2)-0222
N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-精氨酸　Ⅲ-1(2)-0211
N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-缬氨酸　Ⅲ-1(2)-0231
3,5-二碘-D-甲状腺原氨酸　Ⅲ-1(2)-0088
3,5-二碘-L-甲状腺原氨酸　Ⅲ-1(2)-0087
二磷酸酚酞五钠盐　Ⅲ-2(2)-0075
N^{α},O-二-2,4-二硝基苯基-L-酪氨酸　Ⅲ-1(2)-0230
N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-天冬氨酸　Ⅲ-1(2)-0213
N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-天冬酰胺　Ⅲ-1(2)-0212
N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-甲硫氨酸　Ⅲ-1(2)-0224
N-2,4-二硝基苯基-L-异白氨酸　Ⅲ-1(2)-0220
N-2,4-二硝基苯基-L-异亮氨酸　Ⅲ-1(2)-0220
N-2,4-二硝基苯基-L-谷氨酰胺　Ⅲ-1(2)-0215
N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-苯丙氨酸　Ⅲ-1(2)-0225
二硫酸酚酞酯三钾盐　Ⅲ-2(2)-0076
二磷酸酚酞酯四钠盐　Ⅲ-2(2)-0074
N^{α}-二甲氨基萘磺酰组氨酸　Ⅲ-1(2)-0198
5′-二甲氨基萘磺酰酪氨酸　Ⅲ-1(2)-0208
N^{α}-5-二甲氨基萘磺酰精氨酸　Ⅲ-1(2)-0192
二酰甘油酰磷酸丝氨酸　Ⅲ-1(2)-0122
6-二甲氨基-9-β-D-呋喃核糖基嘌呤　Ⅲ-4(1)-0021
N^{α},N^{ϵ}-二丹磺酰赖氨酸二环己胺盐　Ⅲ-1(2)-0201
2-二甲氨基-9-β-D-呋喃核糖基-6-酮基嘌呤　Ⅲ-4(1)-0022
5-二甲氨基萘磺酰丙氨酸氮己环盐　Ⅲ-1(2)-0191
5′-二甲氨基萘磺酰白氨酸氮己环盐　Ⅲ-1(2)-0200
5′-二甲氨基萘磺酰丝氨酸氮己环盐　Ⅲ-1(2)-0205
5′-二甲氨基萘磺酰色氨酸氮己环盐　Ⅲ-1(2)-0207
5′-二甲氨基萘磺酰苏氨酸氮己环盐　Ⅲ-1(2)-0206
5′-二甲氨基萘磺酰亮氨酸氮己环盐　Ⅲ-1(2)-0200
5′-二甲氨基萘磺酰脯氨酸氮己环盐　Ⅲ-1(2)-0204
5′-二甲氨基萘磺酰缬氨酸氮己环盐　Ⅲ-1(2)-0209
6-(γ,γ-二甲基丙烯氨基)-9-β-D-呋喃核糖基嘌呤　Ⅲ-4(1)-0030
2-二甲氨基-7-甲基-9-β-D-呋喃核糖基-6-酮基嘌呤　Ⅲ-4(1)-0058
5′-二甲氨基萘磺酰甲硫氨酸氮己环盐　Ⅲ-1(2)-0202
5′-二甲氨基萘磺酰异白氨酸氮己环盐　Ⅲ-1(2)-0199
5′-二甲氨基萘磺酰异亮氨酸氮己环盐　Ⅲ-1(2)-0199
5-二甲氨基萘磺酰谷氨酸二环己胺盐　Ⅲ-1(2)-0197
5′-二甲氨基萘磺酰苯丙氨酸氮己环盐　Ⅲ-1(2)-0203
N^{α},N^{ϵ}-5′-二甲氨基萘磺酰赖氨酸二环己胺盐　Ⅲ-1(2)-0201
5-二甲氨基萘磺酰天冬氨酸二环己胺盐　Ⅲ-1(2)-0194
N^{α}-5-二甲氨基萘磺酸基丙氨酸双二环己胺盐　Ⅲ-1(2)-0195
丁氮醛酸　Ⅲ-1(2)-0067
L-刀豆氨酸　Ⅲ-1(1)-0026

三　画

N^{2},N^{2},7-三甲基鸟苷　Ⅲ-4(1)-0058
2,4,5-三羟基嘧啶　Ⅲ-4(2)-0008
三磷酸鸟苷　Ⅲ-4(1)-0080
三磷酸尿苷　Ⅲ-4(1)-0086
三磷酸胞苷　Ⅲ-4(1)-0070
三磷酸腺苷　Ⅲ-4(1)-0065
三(对硝基苯)磷酸　Ⅲ-2(2)-0067
3,5,3′-三碘甲状腺原氨酸　Ⅲ-1(2)-0129
干扰素　Ⅲ-3(1)-0027
干酪胺　Ⅲ-1(2)-0130
干酪毒素　Ⅲ-1(2)-0130
D-己氨酸　Ⅲ-1(1)-0083

DL-己氨酸 Ⅲ-1(1)-0081
L-己氨酸 Ⅲ-1(1)-0082
己糖激酶(酵母) Ⅲ-2(1)-0034
马尿酸 Ⅲ-1(2)-0097
马尿酰-L-精氨酸 Ⅲ-1(2)-0098

四　画

无花果蛋白酶 Ⅲ-2(1)-0026
D-天冬氨酸 Ⅲ-1(1)-0025
DL-天冬氨酸 Ⅲ-1(1)-0023
L-天冬氨酸 Ⅲ-1(1)-0024
D-天冬酰胺 Ⅲ-1(1)-0022
DL-天冬酰胺 Ⅲ-1(1)-0020
L-天冬酰胺 Ⅲ-1(1)-0021
D-天门冬氨酸 Ⅲ-1(1)-0025
DL-天门冬氨酸 Ⅲ-1(1)-0023
L-天门冬氨酸 Ⅲ-1(1)-0024
D-天门冬酰胺 Ⅲ-1(1)-0022
DL-天门冬酰胺 Ⅲ-1(1)-0020
L-天门冬酰胺 Ⅲ-1(1)-0021
L-天冬氨酸-β-半醛 Ⅲ-1(2)-0067
β-L-天冬氨酸磷酸酯 Ⅲ-1(2)-0068
L-天冬氨酸二甲酯盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0066
L-天冬氨酸二叔丁酯盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0065
UDP木糖 Ⅲ-4(2)-0052
木瓜蛋白酶 Ⅲ-2(1)-0050
L-犬尿素 Ⅲ-1(2)-0110
牛胆碱 Ⅲ-1(1)-0100
牛磺酸 Ⅲ-1(1)-0100
牛血清白蛋白 Ⅲ-3(1)-0002
反转录酶(鸟类成髓细胞白血病病毒) Ⅲ-2(1)-0063
反-2-氨基-3-羟基丁酸 Ⅲ-1(2)-0099
N^6-(反-4-羟基-异戊烯)腺苷 Ⅲ-4(1)-0060
N^6-(反-4-羟基异戊烯)腺嘌呤 Ⅲ-4(2)-0001
N^6-(反-4-羟基-3-甲基-2-丁烯基)腺苷 Ⅲ-4(1)-0060
6-(反-4-羟基-3-甲基-2-丁烯氨基嘌呤 Ⅲ-4(2)-0001
$N^α$-丹磺酰组氨酸 Ⅲ-1(2)-0198
丹磺酰酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0208
$N^α$-丹磺酰-L-精氨酸 Ⅲ-1(2)-0192
丹色丙氨酸氮己环盐 Ⅲ-1(2)-0191
丹磺酰-L-丙氨酸哌啶盐 Ⅲ-1(2)-0191
丹磺酰白氨酸哌啶盐 Ⅲ-1(2)-0200
丹磺酰丝氨酸哌啶盐 Ⅲ-1(2)-0205
$N^α$-丹磺酰色氨酸哌啶盐 Ⅲ-1(2)-0207
丹磺酰苏氨酸哌啶盐 Ⅲ-1(2)-0206
丹磺酰亮氨酸哌啶盐 Ⅲ-1(2)-0200
丹磺酰脯氨酸哌啶盐 Ⅲ-1(2)-0204
丹磺酰缬氨酸哌啶盐 Ⅲ-1(2)-0209
丹磺酰-L-天冬酰胺哌啶盐 Ⅲ-1(2)-0193
丹磺酰甲硫氨酸哌啶盐 Ⅲ-1(2)-0202
丹磺酰-L-异白氨酸哌啶盐 Ⅲ-1(2)-0199
丹磺酰-L-异亮氨酸哌啶盐 Ⅲ-1(2)-0199
丹磺酰苯丙氨酸哌啶盐 Ⅲ-1(2)-0203
丹磺酰-L-谷氨酸二环己胺盐 Ⅲ-1(2)-0197
丹磺酰-L-天冬氨酸二环己胺盐 Ⅲ-1(2)-0194
$N^α$-丹磺酰-谷氨酰胺二环己胺盐 Ⅲ-1(2)-0196
月桂酸对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0061
$N^α$-丹磺酰-L-半胱磺酸双二环己胺盐 Ⅲ-1(2)-0195
D-六高丝氨酸 Ⅲ-1(2)-0104
心肌黄酶 Ⅲ-2(1)-0023
双对硝基苯磷酸钙盐 Ⅲ-2(2)-0027
巴豆苷 Ⅲ-4(2)-0020
水粉蕈素 Ⅲ-4(2)-0022
N-(水粉蕈素-6-氨甲酰)-L-苏氨酸 Ⅲ-4(1)-0056

五　画

D-丙氨酸 Ⅲ-1(1)-0003
DL-丙氨酸 Ⅲ-1(1)-0001
L-丙氨酸 Ⅲ-1(1)-0002
β-丙氨酸 Ⅲ-1(1)-0004
丙种球蛋白 Ⅲ-3(1)-0025
丙酮酸激酶(兔肌) Ⅲ-2(1)-0061
L-丙氨酸-2-萘酰胺 Ⅲ-2(2)-0002
L-丙氨酸-β-萘酰胺 Ⅲ-2(2)-0002
丙酸对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0068
L-丙氨酸甲酯盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0055
D-正白氨酸 Ⅲ-1(1)-0080
DL-正白氨酸 Ⅲ-1(1)-0078
L-正白氨酸 Ⅲ-1(1)-0079
D-正亮氨酸 Ⅲ-1(1)-0080
DL-正亮氨酸 Ⅲ-1(1)-0078
L-正亮氨酸 Ⅲ-1(1)-0079
D-正缬氨酸 Ⅲ-1(1)-0124

DL-正缬氨酸	Ⅲ-1(1)-0122
L-正缬氨酸	Ⅲ-1(1)-0123
正丁酸对硝基苯酯	Ⅲ-2(2)-0053
正己酸对硝基苯酯	Ⅲ-2(2)-0054
正戊酸对硝基苯酯	Ⅲ-2(2)-0072
玉米苷	Ⅲ-4(1)-0060
玉米素	Ⅲ-4(2)-0001
玉米素核苷	Ⅲ-4(1)-0060
去甲肾上腺素	Ⅲ-1(2)-0119
CDP-甘油	Ⅲ-4(2)-0036
甘氨酸	Ⅲ-1(1)-0047
GDP-甘露糖	Ⅲ-4(2)-0040
甘氨酸三甲内盐	Ⅲ-1(2)-0073
N^6-甘氨酸羰基腺苷	Ⅲ-4(1)-0024
甘油醛-3-磷酸脱氢酶(兔肌)	Ⅲ-2(1)-0032
甘氨酸乙酯盐酸盐	Ⅲ-1(2)-0096
甘氨酸叔丁酯盐酸盐	Ⅲ-1(2)-0095
戊二酰-L-苯丙氨酸对硝基苯胺	Ⅲ-2(2)-0019
D-甲状腺素	Ⅲ-1(1)-0109
DL-甲状腺素	Ⅲ-1(1)-0107
L-甲状腺素	Ⅲ-1(1)-0108
N^2-甲基鸟苷	Ⅲ-4(1)-0045
2'-O-甲基鸟苷	Ⅲ-4(1)-0046
1-甲基鸟苷	Ⅲ-4(1)-0044
7-甲基鸟苷	Ⅲ-4(1)-0047
1-甲基肌苷	Ⅲ-4(1)-0048
3-甲基尿苷	Ⅲ-4(1)-0012
5-甲基尿苷	Ⅲ-4(1)-0051
2'-O-甲基尿苷	Ⅲ-4(1)-0050
2'-O-甲基胞苷	Ⅲ-4(1)-0039
3-甲基胞苷	Ⅲ-4(1)-0040
5-甲基胞苷	Ⅲ-4(1)-0041
N^6-甲基腺苷	Ⅲ-4(1)-0037
1-甲基腺苷	Ⅲ-4(1)-0034
2-甲基腺苷	Ⅲ-4(1)-0035
2'-O-甲基腺苷	Ⅲ-4(1)-0036
D-甲硫氨酸	Ⅲ-1(1)-0086
DL-甲硫氨酸	Ⅲ-1(1)-0084
L-甲硫氨酸	Ⅲ-1(1)-0085
β-甲胍基乙酸	Ⅲ-1(2)-0076
2-甲氧基腺苷	Ⅲ-4(2)-0021
甲脒基醋酸	Ⅲ-1(2)-0093
D-α-甲基-β-丙氨酸	Ⅲ-1(1)-0016
DL-α-甲基-β-丙氨酸	Ⅲ-1(1)-0014
L-α-甲基-β-丙氨酸	Ⅲ-1(1)-0015
α-甲基丙氨酸	Ⅲ-1(1)-0013
N-甲基甘氨酸	Ⅲ-1(2)-0124
甲基白蛋白（牛）	Ⅲ-3(1)-0004
7-甲基鸟嘌呤	Ⅲ-4(1)-0007
5-甲基色氨酸	Ⅲ-1(2)-0118
5-甲基尿嘧啶	Ⅲ-4(1)-0008
L-1-甲基组氨酸	Ⅲ-1(2)-0114
L-3-甲基组氨酸	Ⅲ-1(2)-0115
N^4-甲基胞嘧啶	Ⅲ-4(2)-0007
5-甲基胞嘧啶	Ⅲ-4(1)-0006
7-甲基黄嘌呤	Ⅲ-4(2)-0009
N^{ϵ}-甲基-DL-赖氨酸	Ⅲ-1(2)-0116
7-甲基腺嘌呤	Ⅲ-4(2)-0006
1-甲基-6-嘌呤酮	Ⅲ-4(2)-0012
L-甲硫氨酸砜	Ⅲ-1(2)-0111
N-甲酰-L-谷氨酸	Ⅲ-1(2)-0094
L-甲状腺原氨酸	Ⅲ-1(2)-0127
4-甲氨基-2-嘧啶酮	Ⅲ-4(2)-0007
α-甲脒基戊二酸	Ⅲ-1(2)-0092
N^6-(3-甲基-2-丁烯)腺苷	Ⅲ-4(1)-0030
3-甲基天冬氨酸	Ⅲ-1(2)-0113
β-甲基天冬氨酸	Ⅲ-1(2)-0113
1-甲基次黄嘌呤	Ⅲ-4(2)-0012
甲基胍基乙酸	Ⅲ-1(2)-0076
5-甲基脱氧尿苷	Ⅲ-4(1)-0057
N^4-甲基脱氧胞苷	Ⅲ-4(1)-0038
5-甲基脱氧胞苷	Ⅲ-4(1)-0042
N^6-甲基脱氧腺苷	Ⅲ-4(1)-0033
5-甲基-2-硫代尿苷	Ⅲ-4(1)-0049
L-甲硫氨酸亚砜	Ⅲ-1(2)-0112
1-甲基-6-甲氨基嘌呤	Ⅲ-4(2)-0003
4-甲基伞形酮乙酸酯	Ⅲ-2(2)-0037
1-甲基次黄嘌呤核苷	Ⅲ-4(1)-0048
N-甲基咪唑基-5-丙氨酸	Ⅲ-1(2)-0114
3-甲基咪唑基-4-丙氨酸	Ⅲ-1(2)-0115
6-甲氨基嘌呤核糖核苷	Ⅲ-4(1)-0037
6-甲氨基嘌呤脱氧核苷	Ⅲ-4(1)-0033
5-甲氧羰甲基-2-硫代尿苷	Ⅲ-4(1)-0032
N^6-甲基-N^6-甘氨酸羰基腺苷	Ⅲ-4(1)-0043
甲基甲硫氨酸溴化锍	Ⅲ-1(2)-0117
4-甲基伞形酮-β-葡糖苷酸	Ⅲ-2(2)-0043
4-甲基伞形酮硫酸钾盐	Ⅲ-2(2)-0045
1-甲基胍基乙酸内酰胺	Ⅲ-1(2)-0077

5-甲基胞嘧啶脱氧核苷	Ⅲ-4(1)-0042
甲硫氨酸甲基溴化锍	Ⅲ-1(2)-0117
2-甲氨基-9-β-D-呋喃核糖基-6-酮基	Ⅲ-4(1)-0045
4-甲基伞形酰-β-D-吡喃葡糖苷	Ⅲ-2(2)-0042
4-甲基伞形酰-β吡喃半乳糖苷	Ⅲ-2(2)-0041
4-甲基伞形酰-N-乙酰-β-D-氨基葡糖苷	Ⅲ-2(2)-0039
2′-(4-甲基伞形酰)-α-D-N-乙酰神经氨酸钠盐	Ⅲ-2(2)-0040
4-甲基伞形酰-N-乙酰-β-D-氨基半乳糖苷	Ⅲ-2(2)-0038
4-甲基伞形酰-4-胍基苯甲酸盐酸盐	Ⅲ-2(2)-0044
5-甲氨基萘磺酰天冬酰胺氮己环盐	Ⅲ-1(2)-0193
6-(3-甲基-2-丁烯氨基)-2-甲硫基-9-β-D-呋喃核糖基嘌呤	Ⅲ-4(1)-0031
4-甲基伞形酰对(N,N,N-三甲铵基)肉桂酸氯化物	Ⅲ-2(2)-0046
生长激素抑制素	Ⅲ-3(1)-0020
生长激素释放因子	Ⅲ-3(1)-0019
生长激素释放抑制因子	Ⅲ-3(1)-0020
生长激素释放的抑制激素	Ⅲ-3(1)-0020
白明胶	Ⅲ-3(1)-0018
D-白氨酸	Ⅲ-1(1)-0077
DL-白氨酸	Ⅲ-1(1)-0075
L-白氨酸	Ⅲ-1(1)-0076
白氨酸氨肽酶(猪肾，胞液)	Ⅲ-2(1)-0040
白氨酸氨肽酶M(猪肾，微粒体)	Ⅲ-2(1)-0041
L-白氨酸对硝基苯胺	Ⅲ-2(2)-0020
D-瓜氨酸	Ⅲ-1(1)-0029
DL-瓜氨酸	Ⅲ-1(1)-0027
L-瓜氨酸	Ⅲ-1(1)-0028
鸟苷	Ⅲ-4(1)-0023
鸟一磷	Ⅲ-4(1)-0079
鸟二磷	Ⅲ-4(1)-0076
鸟三磷	Ⅲ-4(1)-0080
2′-鸟苷酸	Ⅲ-4(1)-0077
3′-鸟苷酸	Ⅲ-4(1)-0078
5′-鸟苷酸	Ⅲ-4(1)-0079
D-鸟氨酸	Ⅲ-1(1)-0089
DL-鸟氨酸	Ⅲ-1(1)-0087
L-鸟氨酸	Ⅲ-1(1)-0088
鸟嘌呤	Ⅲ-4(1)-0004
鸟苷-2′-磷酸	Ⅲ-4(1)-0077
鸟苷-3′-磷酸	Ⅲ-4(1)-0078
鸟苷-5′-磷酸	Ⅲ-4(1)-0079
鸟苷-5′-二磷酸	Ⅲ-4(1)-0076
5′-鸟苷二磷酸	Ⅲ-4(1)-0076
鸟苷-5′-三磷酸	Ⅲ-4(1)-0080
5′-鸟苷三磷酸	Ⅲ-4(1)-0080
鸟嘌呤脱氧核苷	Ⅲ-4(1)-0017
鸟苷-5′-二磷酸-D-甘露糖	Ⅲ-4(2)-0040
鸟苷-5′-二磷酸-L-岩藻糖	Ⅲ-4(2)-0039
鸟苷-5′-二磷酸-D-葡（萄）糖	Ⅲ-4(2)-0038
鸟嘌呤脱氧核糖-5′-三磷酸	Ⅲ-4(1)-0073
半胱胺	Ⅲ-1(2)-0081
D-半胱氨酸	Ⅲ-1(1)-0032
DL-半胱氨酸	Ⅲ-1(1)-0030
L-半胱氨酸	Ⅲ-1(1)-0031
α-半乳糖苷酶	Ⅲ-2(1)-0027
β-半乳糖苷酶	Ⅲ-2(1)-0028
β-半乳糖萘酚AS-LC	Ⅲ-2(2)-0031
UDP半乳糖醛酸	Ⅲ-4(2)-0048
α-对硝基苯甘油	Ⅲ-2(2)-0021
对(β-氨基乙基)苯酚	Ⅲ-1(2)-0130
对氨基-DL-苯丙氨酸	Ⅲ-1(2)-0060
N^{α}-对甲苯磺酰-L-精氨酸	Ⅲ-1(2)-0128
O-对羟（基）苯基酪氨酸	Ⅲ-1(2)-0127
β-(对羟基-3-碘苯)丙氨酸	Ⅲ-1(2)-0109
对硝基苯-α-D-麦芽糖苷	Ⅲ-2(2)-0062
β-对羟基-3,5-二碘苯丙氨酸	Ⅲ-1(2)-0089
β-对羟基-3,5-二碘苯丙氨酸	Ⅲ-1(2)-0090
β-对羟基-3,5-二溴苯丙氨酸	Ⅲ-1(2)-0085
对硝基苯-α-D-吡喃葡糖苷	Ⅲ-2(2)-0058
对硝基苯-β-D-吡喃葡糖苷	Ⅲ-2(2)-0060
对硝基苯磷酸二乙酯	Ⅲ-2(2)-0026
对硝基苯磷酸二钠盐	Ⅲ-2(2)-0066
对硝基苯-α-D-吡喃甘露糖苷	Ⅲ-2(2)-0063
对硝基苯-β-L-吡喃岩藻糖苷	Ⅲ-2(2)-0055
对硝基苯-N-乙酰-β-D-氨基葡糖苷	Ⅲ-2(2)-0052
对硝基苯-2,3,4,6-四-O-乙酰-β-D-氨基葡糖苷	Ⅲ-2(2)-0070
5′-对硝基苯胸苷一磷酸单钠盐	Ⅲ-2(2)-0071
N^{α}-对甲苯磺酰-L-精氨酸甲酯盐	

酸盐 Ⅲ-2(2)-0022
台尔明 Ⅲ-1(2)-0130
D-丝氨酸 Ⅲ-1(1)-0099
DL-丝氨酸 Ⅲ-1(1)-0097
L-丝氨酸 Ⅲ-1(1)-0098
丝氨酸-O-磷酸酯 Ⅲ-1(2)-0126
DL-丝氨酸乙醇胺磷酸二酯 Ⅲ-1(2)-0125

六 画

亚牛磺酸 Ⅲ-1(2)-0108
N-亚胺甲基甘氨酸 Ⅲ-1(2)-0093
N-亚氨代甲基甘氨酸 Ⅲ-1(2)-0093
N-亚氨代甲基谷氨酸 Ⅲ-1(2)-0092
N-亚胺甲基-L-谷氨酸 Ⅲ-1(2)-0092
α,α'-亚胺基-(δ-胍基戊酸)
丙酸 Ⅲ-1(2)-0120
过氧化物酶（辣根） Ⅲ-2(1)-0052
过氧化氢酶（牛肝） Ⅲ-2(1)-0014
同Ⅰ凝集素A_4 Ⅲ-3(2)-0002
同Ⅰ凝集素A_2B Ⅲ-3(2)-0003
同Ⅰ凝集素A_2B_2 Ⅲ-3(2)-0004
同Ⅰ凝集素AB_3 Ⅲ-3(2)-0005
同Ⅰ凝集素B_4 Ⅲ-3(2)-0006
HG因子 Ⅲ-3(1)-0021
虫萤光素酶 Ⅲ-2(1)-0043
肉豆蔻酸对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0064
血红蛋白 Ⅲ-3(1)-0023
血蓝蛋白 Ⅲ-3(1)-0022
血纤维蛋白 Ⅲ-3(1)-0015
血纤维蛋白-蓝 Ⅲ-2(2)-0030
血纤维蛋白原 Ⅲ-3(1)-0016
肌苷 Ⅲ-4(1)-0029
肌酸 Ⅲ-1(2)-0076
5'-肌苷酸 Ⅲ-4(1)-0081
肌氨酸 Ⅲ-1(2)-0124
肌酸酐 Ⅲ-1(2)-0077
肌激酶（兔肌） Ⅲ-2(1)-0046
肌动蛋白（兔肌） Ⅲ-3(1)-0001
肌红蛋白（马心） Ⅲ-3(1)-0030
肌苷-5'-磷酸 Ⅲ-4(1)-0081
肌球蛋白 Ⅲ-3(1)-0031
肌肉腺苷酸 Ⅲ-4(1)-0064
肌苷-5'-二磷酸胆碱 Ⅲ-4(2)-0032
肌苷-5'-磷酸-N-乙酰神经氨酸 Ⅲ-4(2)-0031
多核苷酸激酶（T_4噬菌体感染
E,coli） Ⅲ-2(1)-0058
D-色氨酸 Ⅲ-1(1)-0112
DL-色氨酸 Ⅲ-1(1)-0110
L-色氨酸 Ⅲ-1(1)-0111
次黄嘌呤 Ⅲ-4(1)-0005
次黄嘌呤核苷 Ⅲ-4(1)-0029
次黄嘌呤核苷-5'-磷酸 Ⅲ-4(1)-0081
异鸟苷 Ⅲ-4(2)-0020
D-异白氨酸 Ⅲ-1(1)-0072
DL-异白氨酸 Ⅲ-1(1)-0070
L-异白氨酸 Ⅲ-1(1)-0071
异鸟嘌呤 Ⅲ-4(2)-0005
D-异亮氨酸 Ⅲ-1(1)-0072
DL-异亮氨酸 Ⅲ-1(1)-0070
L-异亮氨酸 Ⅲ-1(1)-0071
D-异缬氨酸 Ⅲ-1(1)-0121
DL-异缬氨酸 Ⅲ-1(1)-0119
L-异缬氨酸 Ⅲ-1(1)-0120
N^6-(Δ^2-异戊烯基）腺苷 Ⅲ-4(1)-0030
异柠檬酸脱氢酶（猪心） Ⅲ-2(1)-0036
N^6-(Δ^2-异戊烯基)-2-甲硫基
腺苷 Ⅲ-4(1)-0031
异硫氰酸荧光素标记A蛋白 Ⅲ-3(1)-0017
纤维素酶 Ⅲ-2(1)-0015

七 画

麦硫因 Ⅲ-1(2)-0091
麦胚凝集素 Ⅲ-3(2)-0001
O-苄基-L-丝氨酸 Ⅲ-1(2)-0071
O-苄基-L-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0072
S-苄基-L-半胱氨酸 Ⅲ-1(2)-0070
N^{α}-苄氧羰基-L-丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0170
N^{α}-苄氧羰基甘氨酸 Ⅲ-1(2)-0177
N^{α}-苄氧羰基白氨酸 Ⅲ-1(2)-0180
N^{α}-苄氧羰基-L-丝氨酸 Ⅲ-1(2)-0186
N^{α}-苄氧羰基-L-色氨酸 Ⅲ-1(2)-0188
N^{α}-苄氧羰基-L-苏氨酸 Ⅲ-1(2)-0187
N^{α}-苄氧羰基谷氨酸 Ⅲ-1(2)-0175
N^{α}-苄氧羰基-L-组氨酸 Ⅲ-1(2)-0178
N^{α}-苄氧羰基亮氨酸 Ⅲ-1(2)-0180
N^{α}-苄氧羰基-L-脯氨酸 Ⅲ-1(2)-0185
N^{α}-苄氧羰基赖氨酸 Ⅲ-1(2)-0181
N^{ε}-苄氧羰基-L-赖氨酸 Ⅲ-1(2)-0182

N^{α}-苄氧羰基-L-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0189
N^{α}-苄氧羰基精氨酸 Ⅲ-1(2)-0171
N^{α}-苄氧羰基-L-缬氨酸 Ⅲ-1(2)-0190
N^{α}-苄氧羰基天冬酰胺 Ⅲ-1(2)-0172
N^{α}-苄氧羰基-L-甲硫氨酸 Ⅲ-1(2)-0183
N^{α}-苄氧羰基-L-异白氨酸 Ⅲ-1(2)-0179
N^{α}-苄氧羰基-L-异亮氨酸 Ⅲ-1(2)-0179
N^{α}-苄氧羰基谷氨酰胺 Ⅲ-1(2)-0174
N^{α}-苄氧羰基-L-环谷氨酸 Ⅲ-1(2)-0173
N^{α}-苄氧羰基苯丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0184
N^{α}-苄氧羰基焦谷氨酸 Ⅲ-1(2)-0173
N^{α}-苄氧羰基-S-苄基半胱氨酸 Ⅲ-1(2)-0176
N-苄氧羰酰-L-酪氨酸对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0015
N-苄氧羰酰-L-缬氨酸对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0016
N-苄氧羰酰-S-苄基-L-半胱氨酸对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0014
D-苏氨酸 Ⅲ-1(1)-0103
DL-苏氨酸 Ⅲ-1(1)-0101
L-苏氨酸 Ⅲ-1(1)-0102
苏-β-羟基谷氨酸 Ⅲ-1(2)-0101
N^{6}-苏氨酸羰基腺苷 Ⅲ-4(1)-0056
苏-β-羟基天冬氨酸 Ⅲ-1(2)-0099
赤-β-羟基天冬氨酸 Ⅲ-1(2)-0100
抗生物素蛋白（卵清） Ⅲ-3(1)-0006
T_4-DNA连接酶 Ⅲ-2(1)-0024
9-β-D-呋喃核苷鸟嘌呤 Ⅲ-4(1)-0023
1-β-D-呋喃核苷尿嘧啶 Ⅲ-4(1)-0059
1-β-D-呋嘧核苷乳清酸 Ⅲ-4(2)-0023
1-β-D-呋喃核苷胞嘧啶 Ⅲ-4(1)-0014
9-β-D-呋喃核苷腺嘌呤 Ⅲ-4(1)-0011
9-β-D-呋喃核糖基嘌呤 Ⅲ-4(2)-0022
9-β-D-呋喃核苷次黄嘌呤 Ⅲ-4(1)-0029
5-(β-D-呋喃核糖基）尿嘧啶 Ⅲ-4(1)-0052
1-β-D-呋喃核糖基胸腺嘧啶 Ⅲ-4(1)-0051
9-β-D-2′-呋喃脱氧核苷鸟嘌呤 Ⅲ-4(1)-0017
1-β-D-2′-呋喃脱氧核苷尿嘧啶 Ⅲ-4(1)-0018
1-β-D-2′-呋喃脱氧核苷胞嘧啶 Ⅲ-4(1)-0016
9-β-D-2′-呋喃脱氧核苷腺嘌呤 Ⅲ-4(1)-0015
1-β-D-呋喃阿拉伯糖基尿嘧啶 Ⅲ-4(2)-0025
1-β-D-2′-呋喃脱氧核苷胸腺嘧啶 Ⅲ-4(1)-0057
1-β-D-呋喃阿拉伯糖基胞腺嘧啶 Ⅲ-4(2)-0024
1-β-D-2′-呋喃脱氧核苷-5-甲基胞嘧啶 Ⅲ-4(1)-0042
N-[(9-β-D-呋喃核糖基嘌呤)-6-氨甲酰]甘氨酸 Ⅲ-4(1)-0024
N-[(9-β-D-呋喃核糖基嘌呤-6-)氨甲酰]-L-苏氨酸 Ⅲ-4(1)-0056
N-[(9-β-D-呋喃核糖基嘌呤-6)-N-甲基氨甲酰]甘氨酸 Ⅲ-4(1)-0043
1-吡咯-5-羧酸 Ⅲ-1(2)-0123
DL-2-吡咯酮-5-羧酸 Ⅲ-1(1)-0096
L-2-吡咯酮-5-羧酸 Ⅲ-1(1)-0130
D-别苏氨酸 Ⅲ-1(1)-0106
DL-别苏氨酸 Ⅲ-1(1)-0104
L-别苏氨酸 Ⅲ-1(1)-0105
D-别异白氨酸 Ⅲ-1(1)-0074
L-别异白氨酸 Ⅲ-1(1)-0073
D-别异亮氨酸 Ⅲ-1(1)-0074
L-别异亮氨酸 Ⅲ-1(1)-0073
D-别羟脯氨酸 Ⅲ-1(1)-0069
DL-别羟脯氨酸 Ⅲ-1(1)-0067
L-别羟脯氨酸 Ⅲ-1(1)-0068
别-δ-羟基赖氨酸 Ⅲ-1(2)-0105
伴刀豆球蛋白A Ⅲ-3(2)-0007
邻联(二)茴香胺 Ⅲ-2(2)-0025
邻氨基苯甲酰丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0110
邻硝基苯-β-D-呋喃葡糖苷 Ⅲ-2(2)-0059
邻硝基苯-β-D-吡喃半乳糖苷 Ⅲ-2(2)-0057
D-谷氨酸 Ⅲ-1(1)-0043
DL-谷氨酸 Ⅲ-1(1)-0041
L-谷氨酸 Ⅲ-1(1)-0042
D-谷氨酰胺 Ⅲ-1(1)-0046
DL-谷氨酰胺 Ⅲ-1(1)-0044
L-谷氨酰胺 Ⅲ-1(1)-0045
L-γ-谷氨酰-β-萘酰胺 Ⅲ-2(2)-0018
γ-L-谷氨酰-α-萘酰胺 Ⅲ-2(2)-0017
L-γ-谷氨酰对硝基苯胺 Ⅲ-2(2)-0032
卵白蛋白 Ⅲ-3(1)-0003
卵清蛋白 Ⅲ-3(1)-0003
免疫球蛋白 Ⅲ-3(1)-0025
免疫球蛋白G Ⅲ-3(1)-0026
间酶 Ⅲ-2(1)-0030

尿苷 Ⅲ-4(1)-0059
尿一磷 Ⅲ-4(1)-0085
尿二磷 Ⅲ-4(1)-0082
尿三磷 Ⅲ-4(1)-0086
2′-尿苷酸 Ⅲ-4(1)-0083
3′-尿苷酸 Ⅲ-4(1)-0084
5′-尿苷酸 Ⅲ-4(1)-0085
尿素酶 Ⅲ-2(1)-0078
尿酸酶（猪肝） Ⅲ-2(1)-0079
尿嘧啶 Ⅲ-4(1)-0009
尿激酶（尿） Ⅲ-2(1)-0080
尿苷-5-乙酸 Ⅲ-4(1)-0013
尿苷-6-羧酸 Ⅲ-4(2)-0023
尿苷-2′-磷酸 Ⅲ-4(1)-0083
尿苷-3′-磷酸 Ⅲ-4(1)-0084
尿苷-5′-磷酸 Ⅲ-4(1)-0085
尿苷-5′-二磷酸 Ⅲ-4(1)-0082
5′-尿苷二磷酸 Ⅲ-4(1)-0082
尿苷-5′-三磷酸 Ⅲ-4(1)-0086
5′-尿苷三磷酸 Ⅲ-4(1)-0086
尿苷酸-6-羧酸 Ⅲ-4(2)-0041
尿吡啶核苷 Ⅲ-4(1)-0059
尿嘧啶-6-羧酸 Ⅲ-4(2)-0010
尿苷-5′-二磷酸-D-木糖 Ⅲ-4(2)-0052
尿嘧啶脱氧核苷 Ⅲ-4(1)-0018
尿苷-5′-二磷酸-D-半乳糖 Ⅲ-4(2)-0047
尿苷-5′-二磷酸-α-D-葡(萄)糖 Ⅲ-4(2)-0049
尿苷-5′-二磷酸-L-鼠李糖 Ⅲ-4(2)-0051
尿苷-5′-二磷酸-L-阿拉伯糖 Ⅲ-4(2)-0046
尿苷-5′-二磷酸-D-葡糖醛酸 Ⅲ-4(2)-0050
尿苷-5′-二磷酸-N-乙酰葡糖胺 Ⅲ-4(2)-0045
尿苷-5′-二磷酸-D-半乳糖醛酸 Ⅲ-4(2)-0048
尿嘧啶脱氧核糖-5′-三磷酸 Ⅲ-4(1)-0075
尿苷-5′-二磷酸-N-乙酰半乳糖胺 Ⅲ-4(2)-0044
UDP阿拉伯糖 Ⅲ-4(2)-0046

八　画

环白氨酸 Ⅲ-1(1)-0129
D-环丝氨酸 Ⅲ-1(2)-0079
环亮氨酸 Ⅲ-1(1)-0129
2′,3′-环腺苷酸 Ⅲ-4(2)-0027
3′,5′-环腺苷酸 Ⅲ-4(2)-0028
D-松氨酸 Ⅲ-1(1)-0083
DL-松氨酸 Ⅲ-1(1)-0081
L-松氨酸 Ⅲ-1(1)-0082
D-苯丙氨酸 Ⅲ-1(1)-0092
DL-苯丙氨酸 Ⅲ-1(1)-0090
L-苯丙氨酸 Ⅲ-1(1)-0091
D(-)-α-苯基甘氨酸 Ⅲ-1(2)-0059
N-苯基甘氨酸 Ⅲ-1(2)-0121
N-苯甲酰-DL-丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0157
N-苯甲酰-L-丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0158
N-苯甲酰甘氨酸 Ⅲ-1(2)-0097
N^{α}-苯甲酰-D-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0168
N^{α}-苯甲酰-L-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0167
N^{α}-苯甲酰-L-精氨酸 Ⅲ-1(2)-0160
N^{α}-苯甲酰-DL-苯丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0166
DL-苯甲酸胺基丙酸 Ⅲ-1(2)-0157
N^{α}-苯甲酰-L-丙氨酸甲酯 Ⅲ-1(2)-0159
DL-苯甲酰初油氨基酸 Ⅲ-1(2)-0157
N^{α}-苯甲酰-L-酪氨酸乙酯 Ⅲ-1(2)-0169
苯乙内酰硫脲-L-丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0232
苯乙内酰硫脲甘氨酸 Ⅲ-1(2)-0164
苯乙内酰硫脲-L-白氨酸 Ⅲ-1(2)-0241
苯乙内酰硫脲-L-丝氨酸 Ⅲ-1(2)-0245
苯乙内酰硫脲-L-色氨酸 Ⅲ-1(2)-0247
苯乙内酰硫脲-L-苏氨酸 Ⅲ-1(2)-0246
苯乙内酰硫脲-L-谷氨酸 Ⅲ-1(2)-0237
苯乙内酰硫脲-L-组氨酸 Ⅲ-1(2)-0238
苯乙内酰硫脲-L-亮氨酸 Ⅲ-1(2)-0241
苯乙内酰硫脲-L-脯氨酸 Ⅲ-1(2)-0244
苯乙内酰硫脲-L-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0248
苯乙内酰硫脲-L-精氨酸 Ⅲ-1(2)-0233
苯乙内酰硫脲-L-缬氨酸 Ⅲ-1(2)-0249
苯甲酰甘氨酰精氨酸 Ⅲ-1(2)-0098
苯乙内酰硫脲-L-天冬氨酸 Ⅲ-1(2)-0235
苯乙内酰硫脲-L-天冬酰胺 Ⅲ-1(2)-0234
苯乙内酰硫脲-L-甲硫氨酸 Ⅲ-1(2)-0242
苯乙内酰硫脲-L-异白氨酸 Ⅲ-1(2)-0240
苯乙内酰硫脲-L-异亮氨酸 Ⅲ-1(2)-0240
苯乙内酰硫脲-L-谷氨酰胺 Ⅲ-1(2)-0236
苯乙内酰硫脲-L-苯丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0243
苯乙内酰硫脲-L-羟脯氨酸 Ⅲ-1(2)-0239
N^{α}-苯甲酰-L-精氨酰胺盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0161
N^{α}-苯甲酰-L-精氨酸乙酯盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0162
N^{α}-苯甲酰-L-精氨酸甲酯盐酸盐 Ⅲ-2(2)-0006
N^{α}-苯甲酰-L-精氨酸甲酯碳氢酸

盐 Ⅲ-1(2)-0163
N^{α}-苯甲酰-DL-精氨酸-β-萘酰胺盐酸盐 Ⅲ-2(2)-0005
N^{α}-苯甲酰-L-精氨酸对硝基苯胺盐酸盐 Ⅲ-2(2)-0007
N^{α}-苯甲酰-DL-精氨酸对硝基苯胺盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0165
苹果酸脱氢酶（猪心） Ⅲ-2(1)-0045
D-软氨酸 Ⅲ-1(1)-0083
DL-软氨酸 Ⅲ-1(1)-0081
L-软氨酸 Ⅲ-1(1)-0082
叔丁氧羰基-L-丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0131
N^{α}-叔丁氧羰基甘氨酸 Ⅲ-1(2)-0142
N-叔丁氧羰基-L-白氨酸 Ⅲ-1(2)-0145
N^{α}-叔丁氧羰基-L-丝氨酸 Ⅲ-1(2)-0150
N^{α}-叔丁氧羰基-L-色氨酸 Ⅲ-1(2)-0155
N^{α}-叔丁氧羰基-L-苏氨酸 Ⅲ-1(2)-0152
N-叔丁氧羰基-L-亮氨酸 Ⅲ-1(2)-0145
N^{α}-叔丁氧羰基-L-脯氨酸 Ⅲ-1(2)-0149
N^{α}-叔丁氧羰基-L-缬氨酸 Ⅲ-1(2)-0156
N^{α}-叔丁氧羰基-L-天冬酰胺 Ⅲ-1(2)-0137
N^{α}-叔丁氧羰基-L-甲硫氨酸 Ⅲ-1(2)-0147
N-叔丁氧羰基-L-异白氨酸 Ⅲ-1(2)-0144
N-叔丁氧羰基-L-异亮氨酸 Ⅲ-1(2)-0144
N^{α}-叔丁氧羰基-L-谷氨酰胺 Ⅲ-1(2)-0139
N^{α}-叔丁氧羰基苯丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0148
N^{α}-叔丁氧羰基-O-苄基-L-丝氨酸 Ⅲ-1(2)-0151
N^{α}-叔丁氧羰基-O-苄基-L-苏氨酸 Ⅲ-1(2)-0153
N^{α}-叔丁氧羰基-N^{im}-苄基-L-组氨酸 Ⅲ-1(2)-0143
N^{α}-叔丁氧羰基-O-苄基-L-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0154
N^{α}-叔丁氧羰基-L-天冬氨酰-4-苄酯 Ⅲ-1(2)-0136
N^{α}-叔丁氧羰基-S-苄基-L-半胱氨酸 Ⅲ-1(2)-0138
N^{α}-叔丁氧羰基-4-苄酯-天冬氨酸 Ⅲ-1(2)-0136
N^{α}-叔丁氧羰基-N^{ω}-苄磺酰-L-精氨酸 Ⅲ-1(2)-0133
N^{α}-叔丁氧羰基-L-谷氨酸-γ-叔丁酯 Ⅲ-1(2)-0141
N^{α}-叔丁氧羰基-L-精氨酸盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0134
N^{α}-叔丁氧羰基-β-O-天冬氨酸叔丁酯 Ⅲ-1(2)-0135
N^{α}-叔丁氧羰基-N^{ϵ}-苄氧羰基-L-赖氨酸 Ⅲ-1(2)-0146
叔丁氧羰基-4-叔丁酯天冬氨胺 Ⅲ-1(2)-0135
N-叔丁氧羰酰-L-丙氨酸对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0008
N^{α}-叔丁氧羰酰-L-天冬酰胺对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0009
N-叔丁氧羰酰-L-甲硫氨酸对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0011
N^{α}-叔丁氧羰酰-L-谷氨酰胺对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0010
N^{α}-叔丁氧羰酰-L-苯丙氨酸对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0012
N^{α}-叔丁氧羰酰-O-苄基-L-酪氨酸对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0013
N^{α}-叔丁氧羰基-L-谷氨酸-γ-苄酯二环己胺盐 Ⅲ-1(2)-0140
叔丁氧羰基-L-丙氨酸-N-羟基琥珀酰亚胺酯 Ⅲ-1(2)-0132
N^{ϵ}-叔丁氧羰酰-N^{α}-苄氧羰酰-L-赖氨酸对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0079
GDP岩藻糖 Ⅲ-4(2)-0039
乳清苷 Ⅲ-4(2)-0023
乳清酸 Ⅲ-4(2)-0010
α-乳白蛋白 Ⅲ-3(1)-0028
乳清苷酸 Ⅲ-4(2)-0041
β-乳球蛋白（牛奶） Ⅲ-3(1)-0029
乳清蛋白 Ⅲ-3(1)-0028
乳清苷-5′-磷酸 Ⅲ-4(2)-0041
乳清酸核苷 Ⅲ-4(2)-0023
乳酸脱氢酶 Ⅲ-2(1)-0038
乳过氧化物酶（牛奶） Ⅲ-2(1)-0039
肽链内切酶 Ⅲ-2(1)-0059
肽酰-L-氨基酸水解酶 Ⅲ-2(1)-0013
鱼精蛋白 Ⅲ-3(1)-0032
单碘酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0109
单磷酸酚酞酯三钠盐 Ⅲ-2(2)-0078
限制性核酸内切酶 Ⅲ-2(1)-0062
D-组氨酸 Ⅲ-1(1)-0050
DL-组氨酸 Ⅲ-1(1)-0048
L-组氨酸 Ⅲ-1(1)-0049

组蛋白（小牛胸腺） Ⅲ-3(1)-0024
细胞色素C Ⅲ-2(1)-0019

九　画

枯草杆菌蛋白酶BPN' Ⅲ-2(1)-0072
枯草杆菌蛋白酶Carlsberg Ⅲ-2(1)-0073
胃蛋白酶（猪胃粘膜） Ⅲ-2(1)-0051
5-氟脱氧尿苷 Ⅲ-4(2)-0018
D-氢化吡咯甲酸 Ⅲ-1(1)-0095
DL-氢化吡咯甲酸 Ⅲ-1(1)-0093
L-氢化吡咯甲酸 Ⅲ-1(1)-0094
D-重脬氨基酸 Ⅲ-1(1)-0035
DL-重脬氨基酸 Ⅲ-1(1)-0033
L-重脬氨基酸 Ⅲ-1(1)-0034
重氮乙酰丝氨酸 Ⅲ-1(2)-0069
顺-2-氨基-3-羟基丁酸 Ⅲ-1(2)-0100
CDP胆碱 Ⅲ-4(2)-0032
D-胍基戊氨酸 Ⅲ-1(1)-0019
DL-胍基戊氨酸 Ⅲ-1(1)-0017
L-胍基戊氨酸 Ⅲ-1(1)-0018
胞苷 Ⅲ-4(1)-0014
胞一磷 Ⅲ-4(1)-0069
胞二磷 Ⅲ-4(1)-0066
胞三磷 Ⅲ-4(1)-0070
2'-胞苷酸 Ⅲ-4(1)-0067
3'-胞苷酸 Ⅲ-4(1)-0068
5'-胞苷酸 Ⅲ-4(1)-0069
胞嘧啶 Ⅲ-4(1)-0002
胞苷-2'-磷酸 Ⅲ-4(1)-0067
胞苷-3'-磷酸 Ⅲ-4(1)-0068
胞苷-5'-磷酸 Ⅲ-4(1)-0069
胞质壁酶 Ⅲ-2(1)-0044
胞苷-5'-二磷酸 Ⅲ-4(1)-0066
5'-胞苷二磷酸 Ⅲ-4(1)-0066
胞苷-5'-三磷酸 Ⅲ-4(1)-0070
5'-胞苷三磷酸 Ⅲ-4(1)-0070
胞嘧啶核苷 Ⅲ-4(1)-0014
胞苷-5'-二磷酸甘油 Ⅲ-4(2)-0036
胞嘧啶脱氧核苷 Ⅲ-4(1)-0016
胞苷-5'-二磷酸乙醇胺 Ⅲ-4(2)-0034
胞苷-5'-二磷酸核糖醇 Ⅲ-4(2)-0037
胞苷-5'-二磷酸-D-葡(萄)糖 Ⅲ-4(2)-0035
胞嘧啶脱氧核糖-5'-三磷酸 Ⅲ-4(1)-0072
胞苷-5'-二磷酸二棕榈酰甘油酯 Ⅲ-4(2)-0033
D-亮氨酸 Ⅲ-1(1)-0077
DL-亮氨酸 Ⅲ-1(1)-0075
L-亮氨酸 Ⅲ-1(1)-0076
活性甲硫氨酸 Ⅲ-1(2)-0054

十　画

核酸酶P_1（桔青霉） Ⅲ-2(1)-0048
核酸酶S_1（米曲霉） Ⅲ-2(1)-0049
CDP核糖醇 Ⅲ-4(2)-0037
核糖核酸酶（牛胰） Ⅲ-2(1)-0064
核糖核酸酶A（牛胰） Ⅲ-2(1)-0065
核糖核酸酶T_1 Ⅲ-2(1)-0067
核糖核酸酶T_2（高峰淀粉酶） Ⅲ-2(1)-0068
核糖核酸酶U_2 Ⅲ-2(1)-0069
核苷基玉米素 Ⅲ-4(1)-0060
5-核糖基尿嘧啶 Ⅲ-4(1)-0052
T_4核糖核酸聚合酶（E.Coli） Ⅲ-2(1)-0071
核糖基胸腺嘧啶 Ⅲ-4(1)-0051
核糖核酸酶A，氧化型 Ⅲ-2(1)-0066
铁蛋白（马脾） Ⅲ-3(1)-0014
铁传递蛋白 Ⅲ-3(1)-0034
4-氨基-PGA Ⅲ-1(2)-0061
氨基乙酸 Ⅲ-1(1)-0047
D-α-氨基丁酸 Ⅲ-1(1)-0010
DL-α-氨基丁酸 Ⅲ-1(1)-0008
DL-β-氨基丁酸 Ⅲ-1(1)-0125
L-α-氨基丁酸 Ⅲ-1(1)-0009
γ-氨基丁酸 Ⅲ-1(1)-0011
D-2-氨基己酸 Ⅲ-1(1)-0080
DL-2-氨基己酸 Ⅲ-1(1)-0078
L-2-氨基己酸 Ⅲ-1(1)-0079
6-氨基己酸 Ⅲ-1(1)-0126
D-α-氨基丙酸 Ⅲ-1(1)-0003
DL-α-氨基丙酸 Ⅲ-1(1)-0001
L-α-氨基丙酸 Ⅲ-1(1)-0002
β-氨基丙酸 Ⅲ-1(1)-0004
4-氨基叶酸 Ⅲ-1(2)-0061
6-氨基嘌呤 Ⅲ-4(1)-0001
氨基蝶呤 Ⅲ-1(2)-0061
2-氨基乙磺酸 Ⅲ-1(1)-0100
DL-γ-氨基丁氨酸 Ⅲ-1(1)-0036
L-γ-氨基丁氨酸 Ⅲ-1(1)-0037
2-氨基丁醛酸 Ⅲ-1(2)-0067
D-α-氨基己二酸 Ⅲ-1(1)-0007

DL-α-氨基己二酸 Ⅲ-1(1)-0005

L-α-氨基己二酸 Ⅲ-1(1)-0006

氨基丙二酸 Ⅲ-1(1)-0128

D-2-氨基正丁酸 Ⅲ-1(1)-0010

DL-2-氨基正丁酸 Ⅲ-1(1)-0008

L-2-氨基正丁酸 Ⅲ-1(1)-0009

4-氨基正丁酸 Ⅲ-1(1)-0011

DL-2-氨基正辛酸 Ⅲ-1(1)-0127

D-α-氨基戊二酸 Ⅲ-1(1)-0043

DL-α-氨基戊二酸 Ⅲ-1(1)-0041

L-α-氨基戊二酸 Ⅲ-1(1)-0042

D-β-氨基异丁酸 Ⅲ-1(1)-0016

DL-β-氨基异丁酸 Ⅲ-1(1)-0014

L-β-氨基异丁酸 Ⅲ-1(1)-0015

α-氨基异丁酸 Ⅲ-1(1)-0013

L-α-氨基苯乙酸 Ⅲ-1(2)-0059

α-氨基苯乙酸 Ⅲ-1(2)-0121

α-氨基-β-羟戊酸 Ⅲ-1(1)-0012

氨基酰化酶 Ⅲ-2(1)-0003

D-2-氨基己二羧酸 Ⅲ-1(1)-0007

DL-2-氨基己二羧酸 Ⅲ-1(1)-0005

L-2-氨基己二羧酸 Ⅲ-1(1)-0006

α-氨基-α-甲基丙酸 Ⅲ-1(1)-0013

D-4-氨基-3-异噁唑啉 Ⅲ-1(2)-0079

4-氨基-DL-苯丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0010

2-氨基-6-羟基嘌呤 Ⅲ-4(1)-0004

2-氨基硫代乙烷 Ⅲ-1(2)-0081

D-氨基酸氧化酶（猪肾） Ⅲ-2(1)-0007

L-氨基酸氧化酶（蛇毒） Ⅲ-2(1)-0008

5-氨基咪唑核苷酸 Ⅲ-4(2)-0016

2-氨基-3-羟基戊二酸 Ⅲ-1(2)-0101

4-氨基蝶酰谷氨酸 Ⅲ-1(2)-0061

2-氨基-3-(3,4-二羟基苯）丙酸 Ⅲ-1(2)-0086

α-氨基-γ-甲(基)砜基丁酸 Ⅲ-1(2)-0111

α-氨基-γ-氨氧基-正丁酸 Ⅲ-1(2)-0074

2-氨基-6-羟基-7-甲基嘌呤 Ⅲ-4(1)-0007

5-氨基酮戊酸盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0058

5-氨基-γ-酮戊酸盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0058

α-氨基-β-3,5-二碘-4-羟基苯丙酸 Ⅲ-1(2)-0089

α-氨基-β-3,5-二碘-4-羟基苯丙酸 Ⅲ-1(2)-0090

α-氨基-β-3,5-二溴-4-羟基苯丙酸 Ⅲ-1(2)-0085

α-氨基丁酸甲酯盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0056

α-氨基-γ-甲(基)亚磺基丁酸 Ⅲ-1(2)-0112

α-氨基-β-(1-甲基-5-咪唑基）丙酸 Ⅲ-1(2)-0114

α-氨基-β-(3-甲基咪唑基）丙酸 Ⅲ-1(2)-0115

5-氨基-1-β-D-核糖基咪唑-5′-磷酸 Ⅲ-4(2)-0016

3-氨基-L-酪氨酸二盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0062

S-氨乙基-L-半胱氨酸盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0057

S-氨基-4-咪唑甲酰胺核苷酸 Ⅲ-4(2)-0015

5-氨基咪唑-1-β-D-呋喃核糖基-5′-磷酸 Ⅲ-4(2)-0016

5-氨基-1-β-D-核糖基-4-咪唑甲酰胺-5′-磷酸 Ⅲ-4(2)-0015

3-氨基-3-羟基-丙基-二甲基溴化锍 Ⅲ-1(2)-0117

透明质酸酶（羊睾） Ⅲ-2(1)-0035

胰岛素 Ⅲ-3(1)-0035

胰肽酶E Ⅲ-2(1)-0025

胰蛋白酶（牛胰） Ⅲ-2(1)-0076

胰高血糖素 Ⅲ-3(1)-0021

胰蛋白酶原（牛胰） Ⅲ-2(1)-0077

α-胰凝乳蛋白酶（牛胰） Ⅲ-2(1)-0016

α-胰凝乳蛋白酶原A（牛胰） Ⅲ-2(1)-0017

胱胺 Ⅲ-1(2)-0080

D-胱氨酸 Ⅲ-1(1)-0035

DL-胱氨酸 Ⅲ-1(1)-0033

L-胱氨酸 Ⅲ-1(1)-0034

脂肪酶（猪胰） Ⅲ-2(1)-0042

胸苷 Ⅲ-4(1)-0057

胸腺嘧啶 Ⅲ-4(1)-0008

胸苷-5′-三磷酸 Ⅲ-4(1)-0074

胸苷-5′-二磷酸-D-葡(萄)糖 Ⅲ-4(2)-0042

胸苷-5′-二磷酸-L-鼠李糖 Ⅲ-4(2)-0043

胸腺嘧啶脱氧核苷 Ⅲ-4(1)-0057

胸腺嘧啶脱氧核糖-5′-三磷酸 Ⅲ-4(1)-0074

胶原蛋白 Ⅲ-3(1)-0010

N-脒基肌氨酸 Ⅲ-1(2)-0076

D-高丝氨酸 Ⅲ-1(1)-0059

DL-高丝氨酸 Ⅲ-1(1)-0057

L-高丝氨酸 Ⅲ-1(1)-0058

D-高胱氨酸 Ⅲ-1(1)-0056

DL-高胱氨酸 Ⅲ-1(1)-0054
L-高胱氨酸 Ⅲ-1(1)-0055
D-高半胱氨酸 Ⅲ-1(1)-0053
DL-高半胱氨酸 Ⅲ-1(1)-0051
L-高半胱氨酸 Ⅲ-1(1)-0052
烟酰胺腺嘌呤二核苷酸激酶（鸽肝） Ⅲ-2(1)-0047
海绵尿苷 Ⅲ-4(2)-0025
海绵核苷 Ⅲ-4(2)-0021
海绵胸苷 Ⅲ-4(2)-0024

十一画

麸氨酸 Ⅲ-1(1)-0042
酚酞单-β-葡糖苷酸 Ⅲ-2(2)-0077
酚酞葡糖醛酸钠盐 Ⅲ-2(2)-0077
酚酞单-β-葡糖醛酸钠盐 Ⅲ-2(2)-0077
副刀豆氨酸 Ⅲ-1(2)-0074
萘酚AS-BI N-乙酰-β-氨基葡糖苷 Ⅲ-2(2)-0047
菠萝蛋白酶 Ⅲ-2(1)-0012
黄苷 Ⅲ-4(2)-0026
黄递酶 Ⅲ-2(1)-0023
黄嘌呤 Ⅲ-4(2)-0014
黄嘌呤核苷 Ⅲ-4(2)-0026
黄嘌呤氧化酶（生奶油） Ⅲ-2(1)-0081
CMP唾液酸 Ⅲ-4(2)-0031
甜菜碱 Ⅲ-1(2)-0073
偶氮白蛋白 Ⅲ-2(2)-0003
偶氮酪蛋白 Ⅲ-3(1)-0007
偶氮酪蛋白钠盐 Ⅲ-2(2)-0004
假尿苷 Ⅲ-4(1)-0052
假尿苷C Ⅲ-4(1)-0052
D-脯氨酸 Ⅲ-1(1)-0095
DL-脯氨酸 Ⅲ-1(1)-0093
L-脯氨酸 Ⅲ-1(1)-0094
D-脬氨基酸 Ⅲ-1(1)-0032
DL-脬氨基酸 Ⅲ-1(1)-0030
L-脬氨基酸 Ⅲ-1(1)-0031
脱氧鸟苷 Ⅲ-4(1)-0017
脱氧尿苷 Ⅲ-4(1)-0018
脱氧胞苷 Ⅲ-4(1)-0016
脱氧胸苷 Ⅲ-4(1)-0057
脱氧腺苷 Ⅲ-1(1)-0015
脱铁铁蛋白 Ⅲ-3(1)-0005
脱氧鸟苷-5'-三磷酸 Ⅲ-4(1)-0073
脱氧尿苷-5'-三磷酸 Ⅲ-4(1)-0075
脱氧胞苷-5'-三磷酸 Ⅲ-4(1)-0072
脱氧胸苷-5'-三磷酸 Ⅲ-4(1)-0074
脱氧腺苷-5'-三磷酸 Ⅲ-4(1)-0071
脱氧核糖核酸甲基绿 Ⅲ-2(2)-0024
脱氧核糖核酸酶Ⅰ（牛胰） Ⅲ-2(1)-0020
脱氧核糖核酸Ⅱ酶（猪脾） Ⅲ-2(1)-0021
T_4脱氧核糖核酸连接酶 Ⅲ-2(1)-0070
脱氧核糖核酸聚合酶（T_4噬菌体感染的E.Coli） Ⅲ-2(1)-0022
S-(5'-脱氧腺苷-5')-高半胱氨酸 Ⅲ-1(2)-0053
S-(5'-脱氧腺苷-5')-甲硫氨酸盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0054
2'-脱氧-6-甲氨基-9-β-D-呋喃核糖基嘌呤 Ⅲ-4(1)-0033
1-β-2'-脱氧呋喃核糖基-4-甲氨-2-嘧啶酮 Ⅲ-4(1)-0038
脲酶（巨豆） Ⅲ-2(1)-0078
章鱼碱 Ⅲ-1(2)-0120
麻仁球蛋白 Ⅲ-3(1)-0012
α-淀粉酶 Ⅲ-2(1)-0009
β-淀粉酶 Ⅲ-2(1)-0010
淀粉-1,4-麦芽糖苷酶 Ⅲ-2(1)-0010
D-β-羟丙氨酸 Ⅲ-1(1)-0099
DL-β-羟丙氨酸 Ⅲ-1(1)-0097
L-β-羟丙氨酸 Ⅲ-1(1)-0098
DL-3-羟谷氨酸 Ⅲ-1(1)-0060
β-羟谷氨酸 Ⅲ-1(1)-0060
5-羟基色胺 Ⅲ-1(2)-0106
5-羟基尿苷 Ⅲ-4(1)-0028
2-羟基腺苷 Ⅲ-4(2)-0020
6-羟基嘌呤 Ⅲ-4(1)-0005
D-羟脯氨酸 Ⅲ-1(1)-0066
DL-羟脯氨酸 Ⅲ-1(1)-0064
L-羟脯氨酸 Ⅲ-1(1)-0065
D-δ-羟赖氨酸 Ⅲ-1(1)-0063
DL-δ-羟赖氨酸 Ⅲ-1(1)-0061
L-δ-羟赖氨酸 Ⅲ-1(1)-0062
5-羟甲基尿苷 Ⅲ-4(1)-0027
3-羟基-L-犬尿素 Ⅲ-1(2)-0102
5-羟基-DL-色氨酸 Ⅲ-1(2)-0107
5-羟基尿嘧啶 Ⅲ-4(2)-0008
2-羟基腺嘌呤 Ⅲ-4(2)-0005

5-羟甲基尿嘧啶 Ⅲ-4(2)-0013
N-羟-N-甲酰甘氨酸 Ⅲ-1(2)-0103
β-羟基正缬氨酸 Ⅲ-1(1)-0012
4-羟基苯基乙胺 Ⅲ-1(2)-0130
2-羟基-6-氨基嘌呤 Ⅲ-4(2)-0005
2-羟基-4-氨基嘧啶 Ⅲ-4(1)-0002
5-羟甲基脱氧尿苷 Ⅲ-4(1)-0026
5-羟甲基脱氧胞苷 Ⅲ-4(1)-0025
γ-5-羟基吲哚丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0107
5-羟基-3-(2-氨乙基) 吲哚 Ⅲ-1(2)-0106
5-羟甲基-2,4-二羟基嘧啶 Ⅲ-4(2)-0013
4-(α-羟基-β-乙氨基) 儿茶酚 Ⅲ-1(2)-0119
2-羟基-4-氨基-5-甲基嘧啶 Ⅲ-4(1)-0006
2-(4-羟基偶氮苯) 苯甲酸 Ⅲ-2(2)-0033
5-羟甲基尿嘧啶脱氧核苷 Ⅲ-4(1)-0026
5-羟甲基胞嘧啶脱氧核苷 Ⅲ-4(1)-0025
3-(3-羟基)-邻氨基甲酰丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0102
2-羟基-5-硝基苯硫酸二钾盐 Ⅲ-2(2)-0034
弹性蛋白 Ⅲ-3(1)-0013
弹性蛋白酶 Ⅲ-2(1)-0025
弹性蛋白-地衣红 Ⅲ-2(2)-0029
弹性蛋白-刚果红 Ⅲ-2(2)-0028
A蛋白（金黄色葡萄球菌） Ⅲ-3(1)-0033
D-蛋氨酸 Ⅲ-1(1)-0086
DL-蛋氨酸 Ⅲ-1(1)-0084
蛋白酶A（发面酵母） Ⅲ-2(1)-0059
蛋白酶K Ⅲ-2(1)-0060
L-蛋氨酸 Ⅲ-1(1)-0085
D-蛋白氨基酸 Ⅲ-1(1)-0019
DL-蛋白氨基酸 Ⅲ-1(1)-0017
L-蛋白氨基酸 Ⅲ-1(1)-0018

十 二 画

琥珀酸脱氢酶（猪心） Ⅲ-2(1)-0074
琼脂糖固定化蛋白酶 Ⅲ-2(3)-0014
琼脂糖固定化胰蛋白酶 Ⅲ-2(3)-0017
琼脂糖固定化乙醇脱氢酶 Ⅲ-2(3)-0001
琼脂糖固定化核糖核酸酶A Ⅲ-2(3)-0015
琼脂糖固定化葡糖-6-磷酸脱氢酶 Ⅲ-2(3)-0009
琼脂糖固定化碱性磷酸单酯酶 Ⅲ-2(3)-0004
琼脂糖固定化己糖激酶/葡糖-6-磷酸脱氢酶 Ⅲ-2(3)-0011
植物血球凝集素 Ⅲ-3(2)-0008
棕榈酸对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0065
联甲氧基苯胺 Ⅲ-2(2)-0025
ADP葡（萄）糖 Ⅲ-4(2)-0030
CDP葡（萄）糖 Ⅲ-4(2)-0035
GDP葡（萄）糖 Ⅲ-4(2)-0038
TDP葡（萄）糖 Ⅲ-4(2)-0042
UDP葡糖醛酸 Ⅲ-4(2)-0050
β-葡糖苷酸酶（牛肝） Ⅲ-2(1)-0031
葡糖氧化酶 Ⅲ-2(1)-0029
葡糖-6-磷酸脱氢酶（酵母） Ⅲ-2(1)-0030
α-1,4-葡聚糖-4-葡聚糖水解酶 Ⅲ-2(1)-0009
硬脂酸对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0069
4-硝基苯-α-D-吡喃半乳糖苷 Ⅲ-2(2)-0056
2-硝基-4-羧苯基-N,N-二苯基氨基甲酸 Ⅲ-2(2)-0049
硫因 Ⅲ-1(2)-0091
2-硫代尿苷 Ⅲ-4(1)-0054
4-硫代尿苷 Ⅲ-4(1)-0055
2-硫代胞苷 Ⅲ-4(1)-0053
硫酸-α-萘酯钾盐 Ⅲ-2(2)-0048
硫辛酰胺脱氢酶 Ⅲ-2(1)-0023
2-硫代-1-核糖基胸腺嘧啶 Ⅲ-4(1)-0049
L-β-氰丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0078
氰血红蛋白 Ⅲ-3(1)-0011
氮丝氨酸 Ⅲ-1(2)-0069
DL-焦谷氨酸 Ⅲ-1(1)-0096
L-焦谷氨酸 Ⅲ-1(2)-0130
番茄红素 Ⅲ-2(2)-0035
2-巯基乙胺 Ⅲ-1(2)-0081
β-2-巯咪唑基丙甜菜碱 Ⅲ-1(2)-0091
L-巯组氨酸三甲（基）内盐 Ⅲ-1(2)-0091
2-巯基组氨酸三甲基甜菜碱 Ⅲ-1(2)-0091

十 三 画

D-赖氨酸 Ⅲ-1(1)-0083
DL-赖氨酸 Ⅲ-1(1)-0081
L-赖氨酸 Ⅲ-1(1)-0082
酰基转移酶I Ⅲ-2(1)-0003
N-酰化氨基酸酰氨基水解酶 Ⅲ-2(1)-0003
酪胺 Ⅲ-1(2)-0130
D-酪氨酸 Ⅲ-1(1)-0115
DL-酪氨酸 Ⅲ-1(1)-0113

L-酪氨酸 Ⅲ-1(1)-0114
酪蛋白（牛奶） Ⅲ-3(1)-0009
5-碘脱氧尿苷 Ⅲ-4(2)-0019
3-碘-L-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0109
TDP鼠李糖 Ⅲ-4(2)-0043
UDP鼠李糖 Ⅲ-4(2)-0051
腺苷 Ⅲ-4(1)-0011
腺一磷 Ⅲ-4(1)-0064
腺二磷 Ⅲ-4(1)-0061
腺三磷 Ⅲ-4(1)-0065
腺苷酸 Ⅲ-4(1)-0064
腺苷酸 *a* Ⅲ-4(1)-0062
腺苷酸 *b* Ⅲ-4(1)-0063
腺嘌呤 Ⅲ-4(1)-0001
腺二磷酶 Ⅲ-2(1)-0004
腺三磷酶 Ⅲ-2(1)-0082
腺苷-2′-磷酸 Ⅲ-4(1)-0062
腺苷-3′-磷酸 Ⅲ-4(1)-0063
腺苷-5′-磷酸 Ⅲ-4(1)-0064
腺苷-5′-一磷酸 Ⅲ-4(1)-0064
腺苷二磷酸 Ⅲ-4(1)-0061
腺苷-5′-二磷酸 Ⅲ-4(1)-0061
腺苷-5′-三磷酸 Ⅲ-4(1)-0065
腺苷-2′,3′-环磷酸 Ⅲ-4(2)-0027
腺苷-3′,5′-环磷酸 Ⅲ-4(2)-0028
腺苷-3′,5′-焦磷酸 Ⅲ-4(2)-0029
腺苷酸激酶 Ⅲ-2(1)-0046
腺嘌呤核苷 Ⅲ-4(1)-0011
5′-腺苷二磷酸酶 Ⅲ-2(1)-0004
5′-腺苷三磷酸酶 Ⅲ-2(1)-0082
S-腺苷-L-高半胱氨酸 Ⅲ-1(2)-0053
腺嘌呤脱氧核苷 Ⅲ-4(1)-0015
腺苷-5′-二磷酸-D-葡（萄）糖 Ⅲ-4(2)-0030
S-腺苷甲硫氨酸盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0054
腺嘌呤脱氧核糖-5′-三磷酸 Ⅲ-4(1)-0071
5-溴脱氧尿苷 Ⅲ-4(2)-0017
溶菌酶 Ⅲ-2(1)-0044
D-溶氨基酸 Ⅲ-1(1)-0083
DL-溶氨基酸 Ⅲ-1(1)-0081
L-溶氨基酸 Ⅲ-1(1)-0082
羧肽酶A（牛胰） Ⅲ-2(1)-0013
6-羧基尿苷 Ⅲ-4(2)-0023
5-羧甲基尿苷 Ⅲ-4(1)-0013
6-羧基尿嘧啶 Ⅲ-4(2)-0010
N-(1-羧乙基）精氨酸 Ⅲ-1(2)-0120
6-羧基尿苷-5′-磷酸 Ⅲ-4(1)-0041
S-羧甲基-L-半胱氨酸 Ⅲ-1(2)-0075
3-羧甲硫代丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0075
5-羧甲基-2-硫代尿苷甲酯 Ⅲ-4(1)-0032
羧甲基纤维素固定化木瓜蛋白酶 Ⅲ-2(3)-0013
羧甲基纤维素固定化无花果蛋白酶 Ⅲ-2(3)-0007
羧甲基纤维素固定化胰凝乳蛋白酶 Ⅲ-2(3)-0006

十 四 画

酵母腺苷酸 Ⅲ-4(1)-0063
DNA酶Ⅱ Ⅲ-2(1)-0021
酸性磷酸酯酶（土豆） Ⅲ-2(1)-0053
聚丙烯酰胺固定化脲酶 Ⅲ-2(3)-0019
聚丙烯酰胺固定化-*α*-淀粉酶 Ⅲ-2(3)-0005
聚丙烯酰胺固定化醛缩酶 Ⅲ-2(3)-0003
聚丙烯酰胺固定化胰蛋白酶 Ⅲ-2(3)-0018
聚丙烯酰胺固定化乙醇脱氢酶 Ⅲ-2(3)-0002
聚丙烯酰胺固定化乳酸脱氢酶 Ⅲ-2(3)-0012
聚丙烯酰胺固定化核糖核酸酶A Ⅲ-2(3)-0016
聚丙烯酰胺固定化葡糖氧化酶 Ⅲ-2(3)-0008
聚丙烯酰胺固定化葡糖-6-磷酸脱氢酶 Ⅲ-2(3)-0010
碱性磷酸酯酶（小牛肠粘膜） Ⅲ-2(1)-0054
碳氧血红蛋白（红细胞） Ⅲ-3(1)-0008
嘌呤 Ⅲ-4(2)-0011
嘌呤核苷 Ⅲ-4(2)-0022
D-膀胱氨基酸 Ⅲ-1(1)-0035
DL-膀胱氨基酸 Ⅲ-1(1)-0033
L-膀胱氨基酸 Ⅲ-1(1)-0034
D-精氨酸 Ⅲ-1(1)-0019
DL-精氨酸 Ⅲ-1(1)-0017
L-精氨酸 Ⅲ-1(1)-0018
精氨酸酶（小牛肝） Ⅲ-2(1)-0011
L-精氨酸甲酯二盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0063
蜜二糖酶 Ⅲ-2(1)-0027

十 五 画

醇脱氢酶 Ⅲ-2(1)-0005
D-嗜啉 Ⅲ-1(1)-0095
DL-嗜啉 Ⅲ-1(1)-0093
L-嗜啉 Ⅲ-1(1)-0094
D-缬氨酸 Ⅲ-1(1)-0118
DL-缬氨酸 Ⅲ-1(1)-0116

L-缬氨酸 Ⅲ-1(1)-0117

十 六 画

醛缩酶 Ⅲ-2(1)-0006
醛醇缩合酶 Ⅲ-2(1)-0006
磺基丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0082
凝血酶（牛血） Ⅲ-2(1)-0075
凝血因子Ⅱa Ⅲ-2(1)-0075
激肽原酶 Ⅲ-2(1)-0037
激肽释放酶（猪胰） Ⅲ-2(1)-0037

十 七 画

磷酸丝氨酸 Ⅲ-1(2)-0126
磷酯酰丝氨酸 Ⅲ-1(2)-0122
磷酸二酯酶Ⅰ（蛇毒） Ⅲ-2(1)-0055
磷酸二酯酶Ⅱ（小牛脾） Ⅲ-2(1)-0056
磷酸肌酸激酶 Ⅲ-2(1)-0018
α-磷酸甘油脱氢酶 Ⅲ-2(1)-0033
磷酸葡糖异构酶（酵母） Ⅲ-2(1)-0057
磷酸精氨酸钡盐 Ⅲ-1(2)-0064
磷酸-3-O-甲基荧光素环己铵盐 Ⅲ-2(2)-0036
α-糜蛋白酶 Ⅲ-2(1)-0016
α-糜蛋白酶原A Ⅲ-2(1)-0017

中文名称汉语拼音索引

说　　明

1．本索引收入本分册全部试剂中文名称（含以外文字母形式出现的缩写词），名称后的数字为试剂编号。

2．本索引系按试剂名称中每个汉字的拼音顺序排列，并非按构成试剂名称的汉语拼音的各个拉丁字母的顺序排列。如N-苯基甘氨酸要排在N-苯甲酰甘氨酸之前。

3．拼音相同的汉字，按其声调阴平（—）、阳平（∕）、上声（∨）、去声（∖）顺序排列，如单碘酪氨酸要排在L-蛋氨酸之前；拼音和声调均相同的汉字，则按笔画顺序（由少至多）排列，如L-蛋氨酸要排在氮丝氨酸之前。

A

ā

UDP阿拉伯糖　Ⅲ-4(2)-0046

ān

4-氨基-PGA　Ⅲ-1(2)-0061
α-氨基-γ-氨氧基-正丁酸　Ⅲ-1(2)-0074
4-氨基-DL-苯丙氨酸　Ⅲ-1(2)-0060
L-α-氨基苯乙酸　Ⅲ-1(2)-0059
α-氨基苯乙酸　Ⅲ-1(2)-0121
氨基丙二酸　Ⅲ-1(1)-0128
D-α-氨基丙酸　Ⅲ-1(1)-0003
DL-α-氨基丙酸　Ⅲ-1(1)-0001
L-α-氨基丙酸　Ⅲ-1(1)-0002
β-氨基丙酸　Ⅲ-1(1)-0004
氨基蝶呤　Ⅲ-1(2)-0061
4 氨基蝶酰谷氨酸　Ⅲ-1(2)-0061
DL-γ-氨基丁氨酸　Ⅲ-1(1)-0036
L-γ-氨基丁氨酸　Ⅲ-1(1)-0037
2-氨基丁醛酸　Ⅲ-1(2)-0067
D-α-氨基丁酸　Ⅲ-1(1)-0010
DL-α-氨基丁酸　Ⅲ-1(1)-0008
DL-β-氨基丁酸　Ⅲ-1(1)-0125
L-α-氨基丁酸　Ⅲ-1(1)-0009
γ-氨基丁酸　Ⅲ-1(1)-0011
α-氨基丁酸甲酯盐酸盐　Ⅲ-1(2)-0056
α-氨基-β-3,5-二碘-4-羟基苯丙酸　Ⅲ-1(2)-0089
2-氨基-3-(3,4-二羟基苯) 丙酸　Ⅲ-1(2)-0086
α-氨基-β-3,5-二溴-4-羟基苯丙酸　Ⅲ-1(2)-0085
5-氨基-1-β-D-核糖基-4-咪唑甲酰胺-5′-磷酸　Ⅲ-4(2)-0015
5-氨基-1-β-D-核糖基咪唑-5′-磷酸　Ⅲ-4(2)-0016
D-α-氨基己二酸　Ⅲ-1(1)-0007
DL-α-氨基己二酸　Ⅲ-1(1)-0005
L-α-氨基己二酸　Ⅲ-1(1)-0006
D-2-氨基己二羧酸　Ⅲ-1(1)-0007
DL-2-氨基己二羧酸　Ⅲ-1(1)-0005
L-2-氨基己二羧酸　Ⅲ-1(1)-0006
D-2-氨基已酸　Ⅲ-1(1)-0080
DL-2-氨基已酸　Ⅲ-1(1)-0078
L-2-氨基已酸　Ⅲ-1(1)-0079
6-氨基已酸　Ⅲ-1(1)-0126
α-氨基-α-甲基丙酸　Ⅲ-1(1)-0013
α-氨基-γ-甲（基）砜基丁酸　Ⅲ-1(2)-0111
α-氨基-β-(1-甲基-5-咪唑基) 丙酸　Ⅲ-1(2)-0114
α-氨基-β-(3-甲基咪唑基) 丙酸　Ⅲ-1(2)-0115
α-氨基-γ-甲(基)亚磺基丁酸　Ⅲ-1(2)-0112
3-氨基-L-酪氨酸二盐酸盐　Ⅲ-1(2)-0062
2-氨基硫代乙烷　Ⅲ-1(2)-0081
5-氨基咪唑-1-β-D-呋喃核糖基-5′-磷酸　Ⅲ-4(2)-0016

5-氨基咪唑核苷酸 Ⅲ-4(2)-0016
5-氨基-4-咪唑甲酰胺核苷酸 Ⅲ-4(2)-0015
6-氨基嘌呤 Ⅲ-4(1)-0001
2-氨基-6-羟基-7-甲基嘌呤 Ⅲ-4(1)-0007
2-氨基-6-羟基嘌呤 Ⅲ-4(1)-0004
2-氨基-3-羟基戊二酸 Ⅲ-1(2)-0101
α-氨基-β-羟基戊酸 Ⅲ-1(1)-0012
D-氨基酸氧化酶（猪肾） Ⅲ-2(1)-0007
L-氨基酸氧化酶（蛇毒） Ⅲ-2(1)-0008
3-氨基-3-羧基-丙基-二甲基
　溴化锍 Ⅲ-1(2)-0117
5-氨基酮戊酸盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0058
5-氨基-γ-酮戊酸盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0058
D-α-氨基戊二酸 Ⅲ-1(1)-0043
DL-α-氨基戊二酸 Ⅲ-1(1)-0041
L-α-氨基戊二酸 Ⅲ-1(1)-0042
氨基酰化酶 Ⅲ-2(1)-0003
2-氨基乙磺酸 Ⅲ-1(1)-0100
氨基乙酸 Ⅲ-1(1)-0047
D-β-氨基异丁酸 Ⅲ-1(1)-0016
DL-β-氨基异丁酸 Ⅲ-1(1)-0014
L-β-氨基异丁酸 Ⅲ-1(1)-0015
α-氨基异丁酸 Ⅲ-1(1)-0013
D-4-氨基-3-异噁唑啉 Ⅲ-1(2)-0079
4-氨基叶酸 Ⅲ-1(2)-0061
D-2-氨基正丁酸 Ⅲ-1(1)-0010
DL-2-氨基正丁酸 Ⅲ-1(1)-0008
L-2-氨基正丁酸 Ⅲ-1(1)-0009
4-氨基正丁酸 Ⅲ-1(1)-0011
DL-2-氨基正辛酸 Ⅲ-1(1)-0127
S-氨乙基-L-半胱氨酸盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0057

B

bā

巴豆苷 Ⅲ-4(2)-0020

bái

D-白氨酸 Ⅲ-1(1)-0077
DL-白氨酸 Ⅲ-1(1)-0075
L-白氨酸 Ⅲ-1(1)-0076
白氨酸氨肽酶（猪肾，胞液） Ⅲ-2(1)-0040
白氨酸氨肽酶M（猪肾，微粒体） Ⅲ-2(1)-0041
L-白氨酸对硝基苯胺 Ⅲ-2(2)-0020
白明胶 Ⅲ-3(1)-0018

bàn

D-半胱氨酸 Ⅲ-1(1)-0032
DL-半胱氨酸 Ⅲ-1(1)-0030
L-半胱氨酸 Ⅲ-1(1)-0031
半胱胺 Ⅲ-1(2)-0081
α-半乳糖苷酶 Ⅲ-2(1)-0027
β-半乳糖苷酶 Ⅲ-2(1)-0028
β-半乳糖萘酚AS-LC Ⅲ-2(2)-0031
UDP半乳糖醛酸 Ⅲ-4(2)-0048
伴刀豆球蛋白A Ⅲ-3(2)-0007

bāo

胞壁质酶 Ⅲ-2(1)-0044
胞二磷 Ⅲ-4(1)-0066
胞苷 Ⅲ-4(1)-0014
胞苷-5'-二磷酸 Ⅲ-4(1)-0066
5'-胞苷二磷酸 Ⅲ-4(1)-0066
胞苷-5'-二磷酸胆碱 Ⅲ-4(2)-0032
胞苷-5'-二磷酸二棕榈酰甘油酯 Ⅲ-4(2)-0033
胞苷-5'-二磷酸甘油 Ⅲ-4(2)-0036
胞苷-5'-二磷酸核糖醇 Ⅲ-4(2)-0037
胞苷-5'-二磷酸-D-葡(萄)糖 Ⅲ-4(2)-0035
胞苷-5'-二磷酸乙醇胺 Ⅲ-4(2)-0034
胞苷-2'-磷酸 Ⅲ-4(1)-0067
胞苷-3'-磷酸 Ⅲ-4(1)-0068
胞苷-5'-磷酸 Ⅲ-4(1)-0069
胞苷-5'-磷酸-N-乙酰神经氨酸 Ⅲ-4(2)-0031
胞苷-5'-三磷酸 Ⅲ-4(1)-0070
5'-胞苷三磷酸 Ⅲ-4(1)-0070
2'-胞苷酸 Ⅲ-4(1)-0067
3'-胞苷酸 Ⅲ-4(1)-0068
5'-胞苷酸 Ⅲ-4(1)-0069
胞嘧啶 Ⅲ-4(1)-0002
胞嘧啶核苷 Ⅲ-4(1)-0014
胞嘧啶脱氧核苷 Ⅲ-4(1)-0016
胞嘧啶脱氧核糖-5'-三磷酸 Ⅲ-4(1)-0072
胞三磷 Ⅲ-4(1)-0070
胞一磷 Ⅲ-4(1)-0069

běn

D-苯丙氨酸 Ⅲ-1(1)-0092
DL-苯丙氨酸 Ⅲ-1(1)-0090

L-苯丙氨酸 Ⅲ-1(1)-0091
D(—)-α-苯基甘氨酸 Ⅲ-1(2)-0059
N-苯基甘氨酸 Ⅲ-1(2)-0121
DL-苯甲酰胺基丙酸 Ⅲ-1(2)-0157
N^{α}-苯甲酰-DL-苯丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0166
N-苯甲酰-DL-丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0157
N-苯甲酰-L-丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0158
N^{α}-苯甲酰-L-丙氨酸甲酯 Ⅲ-1(2)-0159
DL-苯甲酰初油氨基酸 Ⅲ-1(2)-0157
N-苯甲酰甘氨酸 Ⅲ-1(2)-0097
苯甲酰甘氨酰精氨酸 Ⅲ-1(2)-0098
N^{α}-苯甲酰-L-精氨酸 Ⅲ-1(2)-0160
N^{α}-苯甲酰-DL-精氨酸对硝基苯胺盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0165
N^{α}-苯甲酰-L-精氨酸-对硝基苯胺盐酸盐 Ⅲ-2(2)-0007
N^{α}-苯甲酰-L-精氨酸甲酯碳氢酸盐 Ⅲ-1(2)-0163
N^{α}-苯甲酰-L-精氨酸甲酯盐酸盐 Ⅲ-2(2)-0006
N^{α}-苯甲酰-DL-精氨酸-β-萘酰胺盐酸盐 Ⅲ-2(2)-0005
N^{α}-苯甲酰-L-精氨酸乙酯盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0162
N^{α}-苯甲酰-L-精氨酰胺盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0161
N^{α}-苯甲酰-D-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0168
N^{α}-苯甲酰-L-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0167
N^{α}-苯甲酰-L-酪氨酸乙酯 Ⅲ-1(2)-0169
苯乙内酰硫脲-L-白氨酸 Ⅲ-1(2)-0241
苯乙内酰硫脲-L-苯丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0243
苯乙内酰硫脲-L-丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0232
苯乙内酰硫脲甘氨酸 Ⅲ-1(2)-0164
苯乙内酰硫脲-L-谷氨酸 Ⅲ-1(2)-0237
苯乙内酰硫脲-L-谷氨酰胺 Ⅲ-1(2)-0236
苯乙内酰硫脲-L-甲硫氨酸 Ⅲ-1(2)-0242
苯乙内酰硫脲-L-精氨酸 Ⅲ-1(2)-0233
苯乙内酰硫脲-L-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0248
苯乙内酰硫脲-L-亮氨酸 Ⅲ-1(2)-0241
苯乙内酰硫脲-L-脯氨酸 Ⅲ-1(2)-0244
苯乙内酰硫脲-L-羟脯氨酸 Ⅲ-1(2)-0239
苯乙内酰硫脲-L-色氨酸 Ⅲ-1(2)-0247
苯乙内酰硫脲-L-丝氨酸 Ⅲ-1(2)-0245
苯乙内酰硫脲-L-苏氨酸 Ⅲ-1(2)-0246
苯乙内酰硫脲-L-天冬氨酸 Ⅲ-1(2)-0235
苯乙内酰硫脲-L-天冬酰胺 Ⅲ-1(2)-0234
苯乙内酰硫脲-L-缬氨酸 Ⅲ-1(2)-0249
苯乙内酰硫脲-L-异白氨酸 Ⅲ-1(2)-0240
苯乙内酰硫脲-L-异亮氨酸 Ⅲ-1(2)-0240
苯乙内酰硫脲-L-组氨酸 Ⅲ-1(2)-0238

bǐ

1-吡咯-5-羧酸 Ⅲ-1(2)-0123
DL-2-吡咯酮-5-羧酸 Ⅲ-1(1)-0096
L-2-吡咯酮-5-羧酸 Ⅲ-1(1)-0130

biàn

S-苄基-L-半胱氨酸 Ⅲ-1(2)-0070
O-苄基-L-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0072
O-苄基-L-丝氨酸 Ⅲ-1(2)-0071
N^{α}-苄氧羰基白氨酸 Ⅲ-1(2)-0180
N^{α}-苄氧羰基苯丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0184
N^{α}-苄氧羰基-S-苄基半胱氨酸 Ⅲ-1(2)-0176
N^{α}-苄氧羰基-L-丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0170
N^{α}-苄氧羰基甘氨酸 Ⅲ-1(2)-0177
N^{α}-苄氧羰基谷氨酸 Ⅲ-1(2)-0175
N^{α}-苄氧羰基谷氨酰胺 Ⅲ-1(2)-0174
N^{α}-苄氧羰基-L-环谷氨酸 Ⅲ-1(2)-0173
N^{α}-苄氧羰基-L-甲硫氨酸 Ⅲ-1(2)-0183
N^{α}-苄氧羰基焦谷氨酸 Ⅲ-1(2)-0173
N^{α}-苄氧羰基精氨酸 Ⅲ-1(2)-0171
N^{α}-苄氧羰基赖氨酸 Ⅲ-1(2)-0181
N^{ε}-苄氧羰基-L-赖氨酸 Ⅲ-1(2)-0182
N^{α}-苄氧羰基-L-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0189
N^{α}-苄氧羰基亮氨酸 Ⅲ-1(2)-0180
N^{α}-苄氧羰基-L-脯氨酸 Ⅲ-1(2)-0185
N^{α}-苄氧羰基-L-色氨酸 Ⅲ-1(2)-0188
N^{α}-苄氧羰基-L-丝氨酸 Ⅲ-1(2)-0186
N^{α}-苄氧羰基-L-苏氨酸 Ⅲ-1(2)-0187
N^{α}-苄氧羰基天冬酰胺 Ⅲ-1(2)-0172
N^{α}-苄氧羰基-L-缬氨酸 Ⅲ-1(2)-0190
N^{α}-苄氧羰基-L-异白氨酸 Ⅲ-1(2)-0179
N^{α}-苄氧羰基-L-异亮氨酸 Ⅲ-1(2)-0179
N^{α}-苄氧羰基-L-组氨酸 Ⅲ-1(2)-0178
N-苄氧羰酰-S-苄基-L-半胱氨酸对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0014
N-苄氧羰酰-L-酪氨酸对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0015
N-苄氧羰酰-L-缬氨酸对硝基

苯酯 Ⅲ-2(2)-0016

bié

别-δ-羟基赖氨酸 Ⅲ-1(2)-0105
D-别羟脯氨酸 Ⅲ-1(1)-0069
DL-别羟脯氨酸 Ⅲ-1(1)-0067
L-别羟脯氨酸 Ⅲ-1(1)-0068
D-别苏氨酸 Ⅲ-1(1)-0106
DL-别苏氨酸 Ⅲ-1(1)-0104
L-别苏氨酸 Ⅲ-1(1)-0105
D-别异白氨酸 Ⅲ-1(1)-0074
L-别异白氨酸 Ⅲ-1(1)-0073
D-别异亮氨酸 Ⅲ-1(1)-0074
L-别异亮氨酸 Ⅲ-1(1)-0073

bǐng

D-丙氨酸 Ⅲ-1(1)-0003
DL-丙氨酸 Ⅲ-1(1)-0001
L-丙氨酸 Ⅲ-1(1)-0002
β-丙氨酸 Ⅲ-1(1)-0004
L-丙氨酸甲酯盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0055
L-丙氨酸-2-萘酰胺 Ⅲ-2(2)-0002
L-丙氨酸-β-萘酰胺 Ⅲ-2(2)-0002
丙酸对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0068
丙酮酸激酶（兔肌） Ⅲ-2(1)-0061
丙种球蛋白 Ⅲ-3(1)-0025

bō

菠萝蛋白酶 Ⅲ-2(1)-0012

C

chì

赤-β-羟基天冬氨酸 Ⅲ-1(2)-0100

chóng

虫萤光素酶 Ⅲ-2(1)-0043
重氮乙酰丝氨酸 Ⅲ-1(2)-0069
D-重脬氨基酸 Ⅲ-1(1)-0035
DL-重脬氨基酸 Ⅲ-1(1)-0033
L-重脬氨基酸 Ⅲ-1(1)-0034

chún

醇脱氢酶 Ⅲ-2(1)-0005

cì

次黄嘌呤 Ⅲ-4(1)-0005
次黄嘌呤核苷 Ⅲ-4(1)-0029
次黄嘌呤核苷-5'-磷酸 Ⅲ-4(1)-0081

D

dān

丹磺酰白氨酸哌啶盐 Ⅲ-1(2)-0200
N^{α}-丹磺酰-L-半胱磺酸双二环己胺盐 Ⅲ-1(2)-0195
丹磺酰苯丙氨酸哌啶盐 Ⅲ-1(2)-0203
丹磺酰-L-丙氨酸哌啶盐 Ⅲ-1(2)-0191
丹磺酰-L-谷氨酸二环己胺盐 Ⅲ-1(2)-0197
N^{α}-丹磺酰-谷氨酰胺二环己胺盐 Ⅲ-1(2)-0196
丹磺酰甲硫氨酸哌啶盐 Ⅲ-1(2)-0202
N^{α}-丹磺酰-L-精氨酸 Ⅲ-1(2)-0192
丹磺酰酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0208
丹磺酰亮氨酸哌啶盐 Ⅲ-1(2)-0200
丹磺酰脯氨酸哌啶盐 Ⅲ-1(2)-0204
N^{α}-丹磺酰色氨酸哌啶盐 Ⅲ-1(2)-0207
丹磺酰丝氨酸哌啶盐 Ⅲ-1(2)-0205
丹磺酰苏氨酸哌啶盐 Ⅲ-1(2)-0206
丹磺酰-L-天冬氨酸二环己胺盐 Ⅲ-1(2)-0194
丹磺酰-L-天冬酰胺哌啶盐 Ⅲ-1(2)-0193
丹磺酰缬氨酸哌啶盐 Ⅲ-1(2)-0209
丹磺酰-L-异白氨酸哌啶盐 Ⅲ-1(2)-0199
丹磺酰-L-异亮氨酸哌啶盐 Ⅲ-1(2)-0199
N^{α}-丹磺酰组氨酸 Ⅲ-1(2)-0198
丹色丙氨酸氨己环盐 Ⅲ-1(2)-0191
单碘酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0109
单磷酸酚酞酯三钠盐 Ⅲ-2(2)-0078

dǎn

CDP胆碱 Ⅲ-4(2)-0032

dàn

D-蛋氨酸 Ⅲ-1(1)-0086
DL-蛋氨酸 Ⅲ-1(1)-0084
L-蛋氨酸 Ⅲ-1(1)-0085
D-蛋白氨基酸 Ⅲ-1(1)-0019
DL-蛋白氨基酸 Ⅲ-1(1)-0017

L-蛋白氨基酸 Ⅲ-1(1)-0018
A蛋白（金黄色葡萄球菌） Ⅲ-3(1)-0033
蛋白酶K Ⅲ-2(1)-0060
蛋白酶A（发面酵母） Ⅲ-2(1)-0059
氮丝氨酸 Ⅲ-1(2)-0069

dāo

L-刀豆氨酸 Ⅲ-1(1)-0026

diǎn

3-碘-L-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0109
5-碘脱氧尿苷 Ⅲ-4(2)-0019

diàn

淀粉-1,4-麦芽糖苷酶 Ⅲ-2(1)-0010
α-淀粉酶 Ⅲ-2(1)-0009
β-淀粉酶 Ⅲ-2(1)-0010

dīng

丁氨醛酸 Ⅲ-1(2)-0067

duì

对氨基-DL-苯丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0060
对(β-氨基乙基）苯酚 Ⅲ-1(2)-0130
$N^α$-对甲苯磺酰-L-精氨酸 Ⅲ-1(2)-0128
$N^α$-对甲苯磺酰-L-精氨酸甲酯盐酸盐 Ⅲ-2(2)-0022
O-对羟（基）苯基酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0127
β-(对羟基-3-碘苯)丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0109
β-对羟基-3,5-二碘苯丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0089
Ⅲ-1(2)-0090
β-对羟基-3,5-二溴苯丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0085
对硝基苯-α-D-吡喃甘露糖苷 Ⅲ-2(2)-0063
对硝基苯-α-D-吡喃葡糖苷 Ⅲ-2(2)-0058
对硝基苯-β-D-吡喃葡糖苷 Ⅲ-2(2)-0060
对硝基苯-β-D-吡喃岩藻糖苷 Ⅲ-2(2)-0055
α-对硝基苯甘油 Ⅲ-2(2)-0021
对硝基苯磷酸二钠盐 Ⅲ-2(2)-0066
对硝基苯磷酸二乙酯 Ⅲ-2(2)-0026
对硝基苯-α-D-麦芽糖苷 Ⅲ-2(2)-0062
对硝基苯-2,3,4,6-四-O-乙酰-β-D-氨基葡糖苷 Ⅲ-2(2)-0070
5′-对硝基苯胸苷-磷酸单钠盐 Ⅲ-2(2)-0071
对硝基苯-N-乙酰-β-D-氨基葡糖苷 Ⅲ-2(2)-0052

duō

多核苷酸激酶（T_4噬菌体感染Ecoli) Ⅲ-2(1)-0058

E

èr

2,6-二氨基-5-羟基己酸 Ⅲ-1(2)-0105
DL-2,4-二氨基丁酸 Ⅲ-1(1)-0036
L-2,4-二氨基丁酸 Ⅲ-1(1)-0037
α,γ-二氨基丁酸 Ⅲ-1(2)-0083
α,γ-二氨基丁酸 Ⅲ-1(2)-0084
2,2′-二氨基二乙基二硫 Ⅲ-1(2)-0080
D-2,5-二氨基戊酸 Ⅲ-1(1)-0089
DL-2,5-二氨基戊酸 Ⅲ-1(1)-0087
L-2,5-二氨基戊酸 Ⅲ-1(1)-0088
DL-2,4-二氨基正丁酸 Ⅲ-1(2)-0084
L-2,4-二氨基正丁酸 Ⅲ-1(2)-0083
$N^α,N^ε$-二丹磺酰赖氨酸二环己胺盐 Ⅲ-1(2)-0201
3,5-二碘-D-甲状腺原氨酸 Ⅲ-1(2)-0088
3,5-二碘-L-甲状腺原氨酸 Ⅲ-1(2)-0087
3,5-二碘-DL-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0090
3,5-二碘-L-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0089
二丁酸酚酞酯 Ⅲ-2(2)-0073
$N^α,N^ε$-二-2,4-二硝基苯基-L-赖氨酸 Ⅲ-1(2)-0221
$N^α$,O-二-2,4-二硝基苯基-L-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0230
$N^α,N^{im}$-二-2,4-二硝基苯基-组氨酸 Ⅲ-1(2)-0218
2-二甲氨基-7-甲基-9-β-D-呋喃核糖基-6-酮基嘌呤 Ⅲ-4(1)-0058
5′-二甲氨基萘磺酰白氨酸氮己环盐 Ⅲ-1(2)-0200
5′-二甲氨基萘磺酰苯丙氨酸氮己环盐 Ⅲ-1(2)-0203
5-二甲氨基萘磺酰丙氨酸氮己环盐 Ⅲ-1(2)-0191
5-二甲氨基萘磺酰谷氨酸二环己胺盐 Ⅲ-1(2)-0197
$N^α$-5-二甲氨基萘磺酰基丙氨

酸双二环己胺盐 Ⅲ-1(2)-0195
5′-二甲氨基萘磺酰甲硫氨酸
氮己环盐 Ⅲ-1(2)-0202
N^{α}-5-二甲氨基萘磺酰精氨酸 Ⅲ-1(2)-0192
N^{α},N^{ϵ}-5′-二甲氨基萘磺酰赖
氨酸二环己胺盐 Ⅲ-1(2)-0201
5′-二甲氨基萘磺酰酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0208
5′-二甲氨基萘磺酰亮氨酸氮
己环盐 Ⅲ-1(2)-0200
5′-二甲氨基萘磺酰脯氨酸氮
己环盐 Ⅲ-1(2)-0204
5′-二甲氨基萘磺酰色氨酸氮
己环盐 Ⅲ-1(2)-0207
5′-二甲氨基萘磺酰丝氨酸氮
己环盐 Ⅲ-1(2)-0205
5′-二甲氨基萘磺酰苏氨酸氮
己环盐 Ⅲ-1(2)-0206
5-二甲氨基萘磺酰天冬氨酸
二环己胺盐 Ⅲ-1(2)-0194
5′-二甲氨基萘磺酰缬氨酸氮
己环盐 Ⅲ-1(2)-0209
5′-二甲氨基萘磺酰异白氨酸
氮己环盐 Ⅲ-1(2)-0199
5′-二甲氨基萘磺酰异亮氨酸
氮己环盐 Ⅲ-1(2)-0199
N^{α}-二甲氨基萘磺酰组氨酸 Ⅲ-1(2)-0198
6-(γ,γ-二甲基丙烯氨基)-9-β-
D-呋喃核糖基嘌呤 Ⅲ-4(1)-0030
N^{2},N^{2}-二甲基鸟苷 Ⅲ-4(1)-0022
7,9-二甲基鸟嘌呤 Ⅲ-4(2)-0004
N^{6},N^{6}-二甲基腺苷 Ⅲ-4(1)-0021
1,N^{6}-二甲基腺嘌呤 Ⅲ-4(2)-0003
3,3′-二甲氧基联苯胺 Ⅲ-2(2)-0025
3,3′-二甲氧基-[1,1′-联苯]-4,
4′-二胺 Ⅲ-2(2)-0025
二磷酸胞苷 Ⅲ-4(1)-0066
二磷酸酚酞四钠盐 Ⅲ-2(2)-0074
二磷酸酚酞五钠盐 Ⅲ-2(2)-0075
二磷酸鸟苷 Ⅲ-4(1)-0076
二磷酸尿苷 Ⅲ-4(1)-0082
二磷酸腺苷 Ⅲ-4(1)-0061
2,2-二硫代乙胺 Ⅲ-1(2)-0080
二硫酸酚酞酯三钾盐 Ⅲ-2(2)-0076
1-(3,4-二羟苯基)-2-氨基乙醇 Ⅲ-1(2)-0119
β-(3,4-二羟基苯)-L-丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0086
2,4-二羟基嘧啶 Ⅲ-4(1)-0009
2,6-二羟基嘌呤 Ⅲ-4(2)-0014
Δ′-二氢吡咯-5-羧酸 Ⅲ-1(2)-0123
5,6-二氢核糖基胸基 Ⅲ-4(1)-0019
5,6-二氢-5-甲基尿苷 Ⅲ-4(1)-0019
5,6-二氢-5-甲基尿嘧啶 Ⅲ-4(2)-0002
二氢尿苷 Ⅲ-4(1)-0020
5,6-二氢尿苷 Ⅲ-4(1)-0020
5,6-二氢尿嘧啶 Ⅲ-4(1)-0003
5,6-二氢胸腺嘧啶 Ⅲ-4(2)-0002
二酰甘油酰磷酸丝氨酸 Ⅲ-1(2)-0122
N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-白氨酸 Ⅲ-1(2)-0223
N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-苯丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0225
N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0210
N^{α}-2,4-二硝基苯基甘氨酸 Ⅲ-1(2)-0217
N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-谷氨酸 Ⅲ-1(2)-0216
N-2,4-二硝基苯基-L-谷氨酰胺 Ⅲ-1(2)-0215
N^{α},N^{α}-二-2,4-二硝基苯基胱
氨酸 Ⅲ-1(2)-0214
N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-甲硫氨酸 Ⅲ-1(2)-0224
N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-精氨酸 Ⅲ-1(2)-0211
N^{ϵ}-2,4-二硝基苯基-L-赖氨酸 Ⅲ-1(2)-0222
N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-亮氨酸 Ⅲ-1(2)-0223
N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-脯氨酸 Ⅲ-1(2)-0226
N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-色氨酸 Ⅲ-1(2)-0229
N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-丝氨酸 Ⅲ-1(2)-0227
N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-苏氨酸 Ⅲ-1(2)-0228
N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-天冬氨
酸 Ⅲ-1(2)-0213
N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-天冬酰
胺 Ⅲ-1(2)-0212
N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-缬氨酸 Ⅲ-1(2)-0231
N-2,4-二硝基苯基-L-异白氨酸 Ⅲ-1(2)-0220
N-2,4-二硝基苯基-L-异亮氨酸 Ⅲ-1(2)-0220
N^{α}-2,4-二硝基苯基-L-组氨酸 Ⅲ-1(2)-0219
3,5-二溴-L-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0085
CDP二棕榈酰甘油酯 Ⅲ-4(2)-0033

F

fān

番茄红素 Ⅲ-2(2)-0035

fǎn

反-2-氨基-3-羟基丁酸 Ⅲ-1(2)-0099
6-(反-4-羟基-3-甲基-2-丁烯氨基)嘌呤 Ⅲ-4(2)-0001
N^6-(反-4-羟基-3-甲基-2-丁烯基)腺苷 Ⅲ-4(1)-0060
N^6-(反-4-羟基-异戊烯)腺苷 Ⅲ-4(1)-0060
N^6-(反-4-羟基异戊烯)腺嘌呤 Ⅲ-4(2)-0001
反转录酶(鸟类成髓细胞白血病病毒) Ⅲ-2(1)-0063

fēn

酚酞单-β-葡糖苷酸 Ⅲ-2(2)-0077
酚酞单-β-葡糖醛酸钠盐 Ⅲ-2(2)-0077
酚酞葡糖醛酸钠盐 Ⅲ-2(2)-0077

fū

1-β-D-呋喃阿拉伯糖基尿嘧啶 Ⅲ-4(2)-0025
1-β-D-呋喃阿拉伯糖基胸腺嘧啶 Ⅲ-4(2)-0024
1-β-D-呋喃核苷胞嘧啶 Ⅲ-4(1)-0014
9-β-D-呋喃核苷次黄嘌呤 Ⅲ-4(1)-0029
9-β-D-呋喃核苷鸟嘌呤 Ⅲ-4(1)-0023
1-β-D-呋喃核苷尿嘧啶 Ⅲ-4(1)-0059
1-β-D-呋喃核苷乳清酸 Ⅲ-4(2)-0023
9-β-D-呋喃核苷腺嘌呤 Ⅲ-4(1)-0011
5-(β-D-呋喃核糖基)尿嘧啶 Ⅲ-4(1)-0052
9-β-D-呋喃核糖基嘌呤 Ⅲ-4(2)-0022
N-[(9-β-D-呋喃核糖基嘌呤)-6-氨甲酰]甘氨酸 Ⅲ-4(1)-0024
N-[(9-β-D-呋喃核糖基嘌呤-6-)氨甲酰]-L-苏氨酸 Ⅲ-4(1)-0056
N-[(9-β-D-呋喃核糖基嘌呤-6)-N-甲基氨甲酰]甘氨酸 Ⅲ-4(1)-0043
1-β-D-呋喃核糖基胸腺嘧啶 Ⅲ-4(1)-0051
1-β-D-2′-呋喃脱氧核苷胞嘧啶 Ⅲ-4(1)-0016
1-β-D-2′-呋喃脱氧核苷-5-甲基胞嘧啶 Ⅲ-4(1)-0042
9-β-D-2′-呋喃脱氧核苷鸟嘌呤 Ⅲ-4(1)-0017
1-β-D-2′-呋喃脱氧核苷尿嘧啶 Ⅲ-4(1)-0018
9-β-D-2′-呋喃脱氧核苷腺嘌呤 Ⅲ-4(1)-0015
1-β-D-2′-呋喃脱氧核苷胸腺嘧啶 Ⅲ-4(1)-0057
麸氨酸 Ⅲ-1(1)-0042

fú

5-氟脱氧尿苷 Ⅲ-1(2)-0018

fù

副刀豆氨酸 Ⅲ-1(2)-0074

G

gān

干酪胺 Ⅲ-1(2)-0130
干酪毒素 Ⅲ-1(2)-0130
干扰素 Ⅲ-3(1)-0027
甘氨酸 Ⅲ-1(1)-0047
甘氨酸三甲内盐 Ⅲ-1(2)-0073
甘氨酸叔丁酯盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0095
N^6-甘氨酸羰基腺苷 Ⅲ-4(1)-0024
甘氨酸乙酯盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0096
GDP-甘露糖 Ⅲ-4(2)-0040
CDP-甘油 Ⅲ-4(2)-0036
甘油醛-3-磷酸脱氢酶(兔肌) Ⅲ-2(1)-0032

gāo

D-高半胱氨酸 Ⅲ-1(1)-0053
DL-高半胱氨酸 Ⅲ-1(1)-0051
L-高半胱氨酸 Ⅲ-1(1)-0052
D-高胱氨酸 Ⅲ-1(1)-0056
DL-高胱氨酸 Ⅲ-1(1)-0054
L-高胱氨酸 Ⅲ-1(1)-0055
D-高丝氨酸 Ⅲ-1(1)-0059
DL-高丝氨酸 Ⅲ-1(1)-0057
L-高丝氨酸 Ⅲ-1(1)-0058

gǔ

D-谷氨酸 Ⅲ-1(1)-0043
DL-谷氨酸 Ⅲ-1(1)-0041
L-谷氨酸 Ⅲ-1(1)-0042
D-谷氨酰胺 Ⅲ-1(1)-0046
DL-谷氨酰胺 Ⅲ-1(1)-0044
L-谷氨酰胺 Ⅲ-1(1)-0045
L-γ-谷氨酰对硝基苯胺 Ⅲ-2(2)-0032
L-γ-谷氨酰-β-萘酰胺 Ⅲ-2(2)-0018
γ-L-谷氨酰-α-萘酰胺 Ⅲ-2(2)-0017

guā

D-瓜氨酸 Ⅲ-1(1)-0029
DL-瓜氨酸 Ⅲ-1(1)-0027
L-瓜氨酸 Ⅲ-1(1)-0028
D-胍基戊氨酸 Ⅲ-1(1)-0019
DL-胍基戊氨酸 Ⅲ-1(1)-0017
L-胍基戊氨酸 Ⅲ-1(1)-0018

guāng

D-胱氨酸 Ⅲ-1(1)-0035
DL-胱氨酸 Ⅲ-1(1)-0033
L-胱氨酸 Ⅲ-1(1)-0034
胱胺 Ⅲ-1(2)-0080

guò

过氧化氢酶（牛肝） Ⅲ-2(1)-0014
过氧化物酶（辣根） Ⅲ-2(1)-0052

H

hǎi

海绵核苷 Ⅲ-4(2)-0021
海绵尿苷 Ⅲ-4(2)-0025
海绵胸苷 Ⅲ-4(2)-0024

hé

核苷基玉米素 Ⅲ-4(1)-0060
核酸酶P_1(桔青霉) Ⅲ-2(1)-0048
核酸酶S_1(米曲霉) Ⅲ-2(1)-0049
CDP核糖醇 Ⅲ-4(2)-0037
T_4核糖核酸聚合酶(E. coli) Ⅲ-2(1)-0071
T_4核糖核酸连接酶 Ⅲ-2(1)-0070
核糖核酸酶(牛胰) Ⅲ-2(1)-0064
核糖核酸酶A(牛胰) Ⅲ-2(1)-0065
核糖核酸酶A，氧化型 Ⅲ-2(1)-0066
核糖核酸酶T_1 Ⅲ-2(1)-0067
核糖核酸酶T_2(高峰淀粉酶) Ⅲ-2(1)-0068
核糖核酸酶U_2 Ⅲ-2(1)-0069
5-核糖基尿嘧啶 Ⅲ-4(1)-0052
核糖基胸腺嘧啶 Ⅲ-4(1)-0051

hǔ

琥珀酸脱氢酶（猪心） Ⅲ-2(1)-0074

huán

环白氨酸 Ⅲ-1(1)-0129
环亮氨酸 Ⅲ-1(1)-0129
D-环丝氨酸 Ⅲ-1(2)-0079
2′,3′-环腺苷酸 Ⅲ-4(2)-0027
3′,5′-环腺苷酸 Ⅲ-4(2)-0028

huáng

黄递酶 Ⅲ-2(1)-0023
黄苷 Ⅲ-4(2)-0026
黄嘌呤 Ⅲ-4(2)-0014
黄嘌呤核苷 Ⅲ-4(2)-0026
黄嘌呤氧化酶（生奶油） Ⅲ-2(1)-0081
磺基丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0082

huó

活性甲硫氨酸 Ⅲ-1(2)-0054

J

jī

肌氨酸 Ⅲ-1(2)-0124
肌动蛋白（兔肌） Ⅲ-3(1)-0001
肌苷 Ⅲ-4(1)-0029
肌苷-5′-磷酸 Ⅲ-4(1)-0081
5′-肌苷酸 Ⅲ-4(1)-0081
肌红蛋白（马心） Ⅲ-3(1)-0030
肌激酶（兔肌） Ⅲ-2(1)-0046
肌球蛋白 Ⅲ-3(1)-0031
肌肉腺苷酸 Ⅲ-4(1)-0064
肌酸 Ⅲ-1(2)-0076
肌酸酐 Ⅲ-1(2)-0077
激肽释放酶（猪胰） Ⅲ-2(1)-0037
激肽原酶 Ⅲ-2(1)-0037

jǐ

D-己氨酸 Ⅲ-1(1)-0083
DL-己氨酸 Ⅲ-1(1)-0081
L-己氨酸 Ⅲ-1(1)-0082
己糖激酶（酵母） Ⅲ-2(1)-0034

jiǎ

6-甲氨基-9-β-D-呋喃核糖基

嘌呤 Ⅲ-4(1)-0021
2-甲氨基-9-β-D-呋喃核糖基-6-酮基 Ⅲ-4(1)-0045
2-甲氨基-9-β-D-呋喃核糖基-6-酮基嘌呤 Ⅲ-4(1)-0022
4-甲氨基-2-嘧啶酮 Ⅲ-4(2)-0007
5-甲氨基萘磺酰二冬酰胺氮己环盐 Ⅲ-1(2)-0193
6-甲氨基嘌呤核糖核苷 Ⅲ-4(1)-0037
6-甲氨基嘌呤脱氧核苷 Ⅲ-4(1)-0033
β-甲胍基乙酸 Ⅲ-1(2)-0076
甲基白蛋白（牛） Ⅲ-3(1)-0004
2′-*O*-甲基胞苷 Ⅲ-4(1)-0039
3-甲基胞苷 Ⅲ-4(1)-0040
5-甲基胞苷 Ⅲ-4(1)-0041
5-甲基胞嘧啶 Ⅲ-4(1)-0006
N^4-甲基胞嘧啶 Ⅲ-4(2)-0007
5-甲基胞嘧啶脱氧核苷 Ⅲ-4(1)-0042
D-α-甲基-β-丙氨酸 Ⅲ-1(1)-0016
DL-α-甲基-β-丙氨酸 Ⅲ-1(1)-0014
L-α-甲基-β-丙氨酸 Ⅲ-1(1)-0015
α-甲基丙氨酸 Ⅲ-1(1)-0013
1-甲基次黄嘌呤 Ⅲ-4(2)-0012
1-甲基次黄嘌呤核苷 Ⅲ-4(1)-0048
6-(3-甲基-2-丁烯氨基)-2-甲硫基-9-β-D-呋喃核糖基嘌呤 Ⅲ-4(1)-0031
N^6-(3-甲基-2-丁烯)腺苷 Ⅲ-4(1)-0030
N-甲基甘氨酸 Ⅲ-1(2)-0124
N^6-甲基-N^6-甘氨酰羰基腺苷 Ⅲ-4(1)-0043
甲基胍基乙酸 Ⅲ-1(2)-0076
1-甲基胍基乙酸内酰胺 Ⅲ-1(2)-0077
7-甲基黄嘌呤 Ⅲ-4(2)-0009
1-甲基肌苷 Ⅲ-4(1)-0048
1-甲基-6-甲氨基嘌呤 Ⅲ-4(2)-0003
甲基甲硫氨酸溴化锍 Ⅲ-1(2)-0117
N^{ε}-甲基-DL-赖氨酸 Ⅲ-1(2)-0116
S-甲基-2-硫代尿苷 Ⅲ-4(1)-0049
3-甲基咪唑基-4-丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0115
N-甲基咪唑基-5-丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0114
1-甲基鸟苷 Ⅲ-4(1)-0044
2′-*O*-甲基鸟苷 Ⅲ-4(1)-0046
7-甲基鸟苷 Ⅲ-4(1)-0047
N^2-甲基鸟苷 Ⅲ-4(1)-0045
7-甲基鸟嘌呤 Ⅲ-4(1)-0007
2′-*O*-甲基尿苷 Ⅲ-4(1)-0050
3-甲基尿苷 Ⅲ-4(1)-0012
5-甲基尿苷 Ⅲ-4(1)-0051
5-甲基尿嘧啶 Ⅲ-4(1)-0008
1-甲基-6-嘌呤酮 Ⅲ-4(2)-0012
4-甲基伞形酰-β-吡喃半乳糖苷 Ⅲ-2(2)-0041
4-甲基伞形酰-β-D-吡喃葡糖苷 Ⅲ-2(2)-0042
4-甲基伞形酰-对(*N*,*N*,*N*-三甲铵基）肉桂酸氯化物 Ⅲ-2(2)-0046
4-甲基伞形酰-4-胍基苯甲酸盐酸盐 Ⅲ-2(2)-0044
4-甲基伞形酰硫酸钾盐 Ⅲ-2(2)-0045
4-甲基伞形酰-β-葡糖苷酸 Ⅲ-2(2)-0043
4-甲基伞形酰乙酸酯 Ⅲ-2(2)-0037
4-甲基伞形酰-*N*-乙酰-β-D-氨基半乳糖苷 Ⅲ-2(2)-0038
4-甲基伞形酰-*N*-乙酰-β-D-氨基葡糖苷 Ⅲ-2(2)-0039
2′-(4-甲基伞形酰)-α-D-*N*-乙酰神经氨酸钠盐 Ⅲ-2(2)-0040
5-甲基色氨酸 Ⅲ-1(2)-0118
3-甲基天冬氨酸 Ⅲ-1(2)-0113
β-甲基天冬氨酸 Ⅲ-1(2)-0113
5-甲基脱氧胞苷 Ⅲ-4(1)-0042
N^4-甲基脱氧胞苷 Ⅲ-4(1)-0038
5-甲基脱氧尿苷 Ⅲ-4(1)-0057
N^6-甲基脱氧腺苷 Ⅲ-4(1)-0033
1-甲基腺苷 Ⅲ-4(1)-0034
2-甲基腺苷 Ⅲ-4(1)-0035
2′-*O*-甲基腺苷 Ⅲ-4(1)-0036
N^6-甲基腺苷 Ⅲ-4(1)-0037
7-甲基胞嘌呤 Ⅲ-4(2)-0006
L-1-甲基组氨酸 Ⅲ-1(2)-0114
L-3-甲基组氨酸 Ⅲ-1(2)-0115
D-甲硫氨酸 Ⅲ-1(1)-0086
DL-甲硫氨酸 Ⅲ-1(1)-0084
L-甲硫氨酸 Ⅲ-1(1)-0085
L-甲硫氨酸砜 Ⅲ-1(2)-0111
甲硫氨酸甲基溴化锍 Ⅲ-1(2)-0117
L-甲硫氨酸亚砜 Ⅲ-1(2)-0112
甲脒基醋酰 Ⅲ-1(2)-0093
α-甲脒基戊二酸 Ⅲ-1(2)-0092
N-甲酰-L-谷氨酸 Ⅲ-1(2)-0094

2-甲氧基腺苷	Ⅲ-4(2)-0021
5-甲氧羰甲基-2-硫代尿苷	Ⅲ-4(1)-0032
D-甲状腺素	Ⅲ-1(1)-0109
DL-甲状腺素	Ⅲ-1(1)-0107
L-甲状腺素	Ⅲ-1(1)-0108
L-甲状腺原氨酸	Ⅲ-1(2)-0127
假尿苷	Ⅲ-4(1)-0052
假尿苷 c	Ⅲ-4(1)-0052

jiān

间酶	Ⅲ-2(1)-0030

jiǎn

碱性磷酸酯酶（小牛肠粘膜）	Ⅲ-2(1)-0054

jiāo

胶原蛋白	Ⅲ-3(1)-0010
DL-焦谷氨酸	Ⅲ-1(1)-0096
L-焦谷氨酸	Ⅲ-1(1)-0130

jiào

酵母腺苷酸	Ⅲ-4(1)-0063

jīng

D-精氨酸	Ⅲ-1(1)-0019
DL-精氨酸	Ⅲ-1(1)-0017
L-精氨酸	Ⅲ-1(1)-0018
L-精氨酸甲酯二盐酸盐	Ⅲ-1(2)-0063
精氨酸酶（小牛肝）	Ⅲ-2(1)-0011

jù

聚丙烯酰胺固定化-α-淀粉酶	Ⅲ-2(3)-0005
聚丙烯酰胺固定化核糖核酸酶A	Ⅲ-2(3)-0016
聚丙烯酰胺固定化脲酶	Ⅲ-2(3)-0019
聚丙烯酰胺固定化葡糖-6-磷酸脱氢酶	Ⅲ-2(3)-0010
聚丙烯酰胺固定化葡糖氧化酶	Ⅲ-2(3)-0008
聚丙烯酰胺固定化醛缩酶	Ⅲ-2(3)-0003
聚丙烯酰胺固定化乳酸脱氢酶	Ⅲ-2(3)-0012
聚丙烯酰胺固定化胰蛋白酶	Ⅲ-2(3)-0018
聚丙烯酰胺固定化乙醇脱氢酶	Ⅲ-2(3)-0002

K

kàng

抗生物素蛋白（卵清）	Ⅲ-3(1)-0006

kū

枯草杆菌蛋白酶BPN'	Ⅲ-2(1)-0072
枯草杆菌蛋白酶Carlsberg	Ⅲ-2(1)-0073

L

lài

D-赖氨酸	Ⅲ-1(1)-0083
DL-赖氨酸	Ⅲ-1(1)-0081
L-赖氨酸	Ⅲ-1(1)-0082

lào

D-酪氨酸	Ⅲ-1(1)-0115
DL-酪氨酸	Ⅲ-1(1)-0113
L-酪氨酸	Ⅲ-1(1)-0114
酪胺	Ⅲ-1(2)-0130
酪蛋白（牛奶）	Ⅲ-3(1)-0009

lián

T_4-DNA-连接酶	Ⅲ-2(1)-0024
联甲氧基苯胺	Ⅲ-2(2)-0025

liàng

D-亮氨酸	Ⅲ-1(1)-0077
DL-亮氨酸	Ⅲ-1(1)-0075
L-亮氨酸	Ⅲ-1(1)-0076

lín

邻氨基苯甲酰丙氨酸	Ⅲ-1(2)-0110
邻联（二）茴香胺	Ⅲ-2(2)-0025
邻硝基苯-β-D-吡喃半乳糖苷	Ⅲ-2(2)-0057
邻硝基苯-β-D-吡喃葡糖苷	Ⅲ-2(2)-0059
磷酸二酯酶Ⅰ（蛇毒）	Ⅲ-2(1)-0055
磷酸二酯酶Ⅱ（小牛脾）	Ⅲ-2(1)-0056
α-磷酸甘油脱氢酶	Ⅲ-2(1)-0033
磷酸肌酸激酶	Ⅲ-2(1)-0018
磷酸-3-O-甲基荧光素环己铵盐	Ⅲ-2(2)-0036
磷酸精氨酸钡盐	Ⅲ-1(2)-0064

磷酸葡糖异构酶（酵母） Ⅲ-2(1)-0057
磷酸丝氨酸 Ⅲ-1(2)-0126
磷酯酰丝氨酸 Ⅲ-1(2)-0122

liú

2-硫代胞苷 Ⅲ-4(1)-0053
2-硫代-1-核糖基嘧啶 Ⅲ-4(1)-0049
2-硫代尿苷 Ⅲ-4(1)-0054
4-硫代尿苷 Ⅲ-4(1)-0055
硫酸-α-萘酯钾盐 Ⅲ-2(2)-0048
硫辛酰胺脱氢酶 Ⅲ-2(1)-0023
硫因 Ⅲ-1(2)-0091

liù

D-六高丝氨酸 Ⅲ-1(2)-0104

luǎn

卵白蛋白 Ⅲ-3(1)-0003
卵清蛋白 Ⅲ-3(1)-0003

M

má

麻仁球蛋白 Ⅲ-3(1)-0012

mǎ

马尿酸 Ⅲ-1(2)-0097
马尿酰-L-精氨酸 Ⅲ-1(2)-0098

mài

麦硫因 Ⅲ-1(2)-0091
麦胚凝集素 Ⅲ-3(2)-0001

méi

DNA酶Ⅱ Ⅲ-2(1)-0021

mí

α-糜蛋白酶 Ⅲ-2(1)-0016
α-糜蛋白酶原A Ⅲ-2(1)-0017

mǐ

N-脒基肌氨酸 Ⅲ-1(2)-0076

mì

密二糖酶 Ⅲ-2(1)-0027

miǎn

免疫球蛋白 Ⅲ-3(1)-0025
免疫球蛋白G Ⅲ-3(1)-0026

mù

木瓜蛋白酶 Ⅲ-2(1)-0050
UDP木糖 Ⅲ-4(2)-0052

N

nài

萘酚AS-B1 N-乙酰-β-氨基葡糖苷 Ⅲ-2(2)-0047

niǎo

D-鸟氨酰 Ⅲ-1(1)-0089
DL-鸟氨酸 Ⅲ-1(1)-0087
L-鸟氨酸 Ⅲ-1(1)-0088
鸟二磷 Ⅲ-4(1)-0076
鸟苷 Ⅲ-4(1)-0023
鸟苷-5′-二磷酰 Ⅲ-4(1)-0076
5′-鸟苷二磷酸 Ⅲ-4(1)-0076
鸟苷-5′-二磷酰-D-甘露糖 Ⅲ-4(2)-0040
鸟苷-5′-二磷酸-D-葡(萄)糖 Ⅲ-4(2)-0038
鸟苷-5′-二磷酸-L-岩藻糖 Ⅲ-4(2)-0039
鸟苷-2′-磷酸 Ⅲ-4(1)-0077
鸟苷-3′-磷酸 Ⅲ-4(1)-0078
鸟苷-5′-磷酸 Ⅲ-4(1)-0079
鸟苷-5′-三磷酸 Ⅲ-4(1)-0080
5′-鸟苷三磷酸 Ⅲ-4(1)-0080
2′-鸟苷酸 Ⅲ-4(1)-0077
3′-鸟苷酸 Ⅲ-4(1)-0078
5′-鸟苷酰 Ⅲ-4(1)-0079
鸟嘌呤 Ⅲ-4(1)-0004
鸟嘌呤脱氧核苷 Ⅲ-4(1)-0017
鸟嘌呤脱氧核糖-5′-三磷酸 Ⅲ-4(1)-0073
鸟三磷 Ⅲ-4(1)-0080
鸟一磷 Ⅲ-4(1)-0079

niào

尿二磷 Ⅲ-4(1)-0082
尿苷 Ⅲ-4(1)-0059
尿苷-5′-二磷酸 Ⅲ-4(1)-0082

5′-尿苷二磷酸 Ⅲ-4(1)-0082
尿苷-5′-二磷酸-L-阿拉伯糖 Ⅲ-4(2)-0046
尿苷-5′-二磷酸-D-半乳糖 Ⅲ-4(2)-0047
尿苷-5′-二磷酸-D-半乳糖醛酸 Ⅲ-4(2)-0048
尿苷-5′-二磷酸-D-木糖 Ⅲ-4(2)-0052
尿苷-5′-二磷酸-D-葡糖醛酸 Ⅲ-4(2)-0050
尿苷-5′-二磷酸-α-D-葡(萄)糖 Ⅲ-4(2)-0049
尿苷-5′-二磷酸-L-鼠李糖 Ⅲ-4(2)-0051
尿苷-5′-二磷酸-N-乙酰半乳糖胺 Ⅲ-4(2)-0044
尿苷-5′-二磷酸-N-乙酰葡糖胺 Ⅲ-4(2)-0045
尿苷-2′-磷酸 Ⅲ-4(1)-0083
尿苷-3′-磷酸 Ⅲ-4(1)-0084
尿苷-5′-磷酸 Ⅲ-4(1)-0085
尿苷-5′-三磷酸 Ⅲ-4(1)-0086
5′-尿苷三磷酸 Ⅲ-4(1)-0086
2′-尿苷酸 Ⅲ-4(1)-0083
3′-尿苷酸 Ⅲ-4(1)-0084
5′-尿苷酸 Ⅲ-4(1)-0085
尿苷酸-6-羧酸 Ⅲ-4(2)-0041
尿苷-6-羧酸 Ⅲ-4(2)-0023
尿苷-5-乙酸 Ⅲ-4(1)-0013
尿激酶(尿) Ⅲ-2(1)-0080
尿嘧啶 Ⅲ-4(1)-0009
尿嘧啶核苷 Ⅲ-4(1)-0059
尿嘧啶-6-羧酸 Ⅲ-4(2)-0010
尿嘧啶脱氧核苷 Ⅲ-4(1)-0018
尿嘧啶脱氧核糖-5′-三磷酸 Ⅲ-4(1)-0075
尿三磷 Ⅲ-4(1)-0086
尿素酶 Ⅲ-2(1)-0078
尿酸酶(猪肝) Ⅲ-2(1)-0079
尿一磷 Ⅲ-4(1)-0085
脲酶(巨豆) Ⅲ-2(1)-0078

níng

凝血酶(牛血) Ⅲ-2(1)-0075
凝血因子Ⅱa Ⅲ-2(1)-0075

niú

牛胆碱 Ⅲ-1(1)-0100
牛磺酸 Ⅲ-1(1)-0100
牛血清白蛋白 Ⅲ-3(1)-0002

O

ǒu

偶氮白蛋白 Ⅲ-2(2)-0003
偶氮酪蛋白 Ⅲ-3(1)-0007
偶氮酪蛋白钠盐 Ⅲ-2(2)-0004

P

páng

D-膀胱氨基酸 Ⅲ-1(1)-0035
DL-膀胱氨基酸 Ⅲ-1(1)-0033
L-膀胱氨基酸 Ⅲ-1(1)-0034

pāo

D-脬氨基酸 Ⅲ-1(1)-0032
DL-脬氨基酸 Ⅲ-1(1)-0030
L-脬氨基酸 Ⅲ-1(1)-0031

piāo

嘌呤 Ⅲ-4(2)-0011
嘌呤核苷 Ⅲ-4(2)-0022

píng

苹果酸脱氢酶(猪心) Ⅲ-2(1)-0045

pú

D-脯氨酸 Ⅲ-1(1)-0095
DL-脯氨酸 Ⅲ-1(1)-0093
L-脯氨酸 Ⅲ-1(1)-0094
α-1,4-葡聚糖-4-葡聚糖水解酶 Ⅲ-2(1)-0009
β-葡糖苷酸酶(牛肝) Ⅲ-2(1)-0031
葡糖-6-磷酸脱氢酶(酵母) Ⅲ-2(1)-0030
UDP葡糖醛酸 Ⅲ-4(2)-0050
葡糖氧化酶 Ⅲ-2(1)-0029
ADP葡(萄)糖 Ⅲ-4(2)-0030
CDP葡(萄)糖 Ⅲ-4(2)-0035
GDP葡(萄)糖 Ⅲ-4(2)-0038
TDP葡(萄)糖 Ⅲ-4(2)-0042
UDP葡(萄)糖 Ⅲ-4(2)-0049

pǔ

D-嘌啉 Ⅲ-1(1)-0095

DL-嗜啉 Ⅲ-1(1)-0093
L-嗜啉 Ⅲ-1(1)-0094

Q

qiāng

D-β-羟丙氨酸 Ⅲ-1(1)-0099
DL-β-羟丙氨酸 Ⅲ-1(1)-0097
L-β-羟丙氨酸 Ⅲ-1(1)-0098
N-羟-N-甲酰甘氨酸 Ⅲ-1(2)-0103
DL-3-羟谷氨酸 Ⅲ-1(1)-0060
β-羟谷氨酸 Ⅲ-1(1)-0060
2-羟基-4-氨基-5-甲基嘧啶 Ⅲ-4(1)-0006
2-羟基-4-氨基嘧啶 Ⅲ-4(1)-0002
2-羟基-6-氨基嘌呤 Ⅲ-4(2)-0005
5-羟基-3-(2-氨乙基)吲哚 Ⅲ-1(2)-0106
4-羟基苯基乙胺 Ⅲ-1(2)-0130
3-(3-羟基)-邻氨基甲酰丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0102
5-羟基尿苷 Ⅲ-4(1)-0028
5-羟基尿嘧啶 Ⅲ-4(2)-0008
2-(4-羟基偶氮苯)苯甲酸 Ⅲ-2(2)-0033
6-羟基嘌呤 Ⅲ-4(1)-0005
3-羟基-L-犬尿素 Ⅲ-1(2)-0102
5-羟基-DL-色氨酸 Ⅲ-1(2)-0107
5-羟基色胺 Ⅲ-1(2)-0106
2-羟基腺苷 Ⅲ-4(2)-0020
2-羟基腺嘌呤 Ⅲ-4(2)-0005
2-羟基-5-硝基苯硫酸二钾盐 Ⅲ-2(2)-0034
4-(α-羟基-β-乙氨基)儿茶酚 Ⅲ-1(2)-0119
γ-5-羟基吲哚丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0107
β-羟基正缬氨酸 Ⅲ-1(1)-0012
5-羟甲基胞嘧啶脱氧核苷 Ⅲ-4(1)-0025
5-羟甲基-2,4-二羟基嘧啶 Ⅲ-4(2)-0013
5-羟甲基尿苷 Ⅲ-4(1)-0027
5-羟甲基尿嘧啶 Ⅲ-4(2)-0013
5-羟甲基尿嘧啶脱氧核苷 Ⅲ-4(1)-0026
5-羟甲基脱氧胞苷 Ⅲ-4(1)-0025
5-羟甲基脱氧尿苷 Ⅲ-4(1)-0026
D-δ-羟赖氨酸 Ⅲ-1(1)-0063
DL-δ-羟赖氨酸 Ⅲ-1(1)-0061
L-δ-羟赖氨酸 Ⅲ-1(1)-0062
D-羟脯氨酸 Ⅲ-1(1)-0066
DL-羟脯氨酸 Ⅲ-1(1)-0064
L-羟脯氨酸 Ⅲ-1(1)-0065

qīng

D-氢化吡咯甲酸 Ⅲ-1(1)-0095
DL-氢化吡咯甲酸 Ⅲ-1(1)-0093
L-氢化吡咯甲酸 Ⅲ-1(1)-0094

qíng

L-β-氰丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0078
氰血红蛋白 Ⅲ-3(1)-0011

qióng

琼脂糖固定化蛋白酶 Ⅲ-2(3)-0014
琼脂糖固定化核糖核酸酶A Ⅲ-2(3)-0015
琼脂糖固定化已糖激酶/葡糖-6-
磷酸脱氢酶 Ⅲ-2(3)-0011
琼脂糖固定化碱性磷酸单脂酶 Ⅲ-2(3)-0004
琼脂糖固定化葡糖-6-磷酸脱氢酶 Ⅲ-2(3)-0009
琼脂糖固定化胰蛋白酶 Ⅲ-2(3)-0017
琼脂糖固定化乙醇脱氢酶 Ⅲ-2(3)-0001

qiú

2-巯基乙胺 Ⅲ-1(2)-0081
2-巯基组氨酸三甲基甜菜碱 Ⅲ-1(2)-0091
β-2-巯咪唑基丙甜菜碱 Ⅲ-1(2)-0091
L-巯组氨酸三甲(基)内盐 Ⅲ-1(2)-0091

qù

去甲肾上腺素 Ⅲ-1(2)-0119

quán

醛醇缩合酶 Ⅲ-2(1)-0006
醛缩酶 Ⅲ-2(1)-0006

quǎn

L-犬尿素 Ⅲ-1(2)-0110

R

róng

D-溶氨基酸 Ⅲ-1(1)-0083
DL-溶氨基酸 Ⅲ-1(1)-0081
L-溶氨基酸 Ⅲ-1(1)-0082
溶菌酶 Ⅲ-2(1)-0044

ròu

肉豆蔻酸对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0064

rǔ

α-乳白蛋白(牛奶) Ⅲ-3(1)-0028
乳过氧化物酶(牛奶) Ⅲ-2(1)-0039
乳清蛋白 Ⅲ-3(1)-0028
乳清苷 Ⅲ-4(2)-0023
乳清苷-5′-磷酸 Ⅲ-4(2)-0041
乳清苷酸 Ⅲ-4(2)-0041
乳清酸 Ⅲ-4(2)-0010
乳清酸核苷 Ⅲ-4(2)-0023
β-乳球蛋白(牛奶) Ⅲ-3(1)-0029
乳酸脱氢酶 Ⅲ-2(1)-0038

ruǎn

D-软氨酸 Ⅲ-1(1)-0083
DL-软氨酸 Ⅲ-1(1)-0081
L-软氨酸 Ⅲ-1(1)-0082

S

sān

3,5,3′-三碘甲状腺原氨酸 Ⅲ-1(2)-0129
三(对硝基苯)磷酸 Ⅲ-2(2)-0067
N^2,N^2,7-三甲基鸟苷 Ⅲ-4(1)-0058
三磷酸胞苷 Ⅲ-4(1)-0070
三磷酸鸟苷 Ⅲ-4(1)-0080
三磷酸尿苷 Ⅲ-4(1)-0086
三磷酸腺苷 Ⅲ-4(1)-0065
2,4,5-三羟基嘧啶 Ⅲ-4(2)-0008

sè

D-色氨酸 Ⅲ-1(1)-0112
DL-色氨酸 Ⅲ-1(1)-0110
L-色氨酸 Ⅲ-1(1)-0111

shēng

生长激素释放的抑制激素 Ⅲ-3(1)-0020
生长激素释放抑制因子 Ⅲ-3(1)-0020
生长激素释放因子 Ⅲ-3(1)-0019
生长激素抑制素 Ⅲ-3(1)-0020

shū

N-叔丁氧羰基-L-白氨酸 Ⅲ-1(2)-0145
$N^α$-叔丁氧羰基苯丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0148
$N^α$-叔丁氧羰基-$N^ω$-苄碘酰-L-精氨酸 Ⅲ-1(2)-0133
$N^α$-叔丁氧羰基-S-苄基-L-半胱氨酸 Ⅲ-1(2)-0138
$N^α$-叔丁氧羰基-O-苄基-L-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0154
$N^α$-叔丁氧羰基-O-苄基-L-丝氨酸 Ⅲ-1(2)-0151
$N^α$-叔丁氧羰基-O-苄基-L-苏氨酸 Ⅲ-1(2)-0153
$N^α$-叔丁氧羰基-N^{im}-苄基-L-组氨酸 Ⅲ-1(2)-0143
$N^α$-叔丁氧羰基-$N^ε$-苄氧羰基-L-赖氨酸 Ⅲ-1(2)-0146
$N^α$-叔丁氧羰基-4-苄酯-天冬氨酸 Ⅲ-1(2)-0136
叔丁氧羰基-L-丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0131
叔丁氧羰基-L-丙氨酸-N-羟基琥珀酰亚胺酯 Ⅲ-1(2)-0132
$N^α$-叔丁氧羰基甘氨酸 Ⅲ-1(2)-0142
$N^α$-叔丁氧羰基-L-谷氨酸-γ-苄酯二环己胺盐 Ⅲ-1(2)-0140
$N^α$-叔丁氧羰基-L-谷氨酸-γ-叔丁酯 Ⅲ-1(2)-0141
$N^α$-叔丁氧羰基-L-谷氨酰胺 Ⅲ-1(2)-0139
$N^α$-叔丁氧羰基-L-甲硫氨酸 Ⅲ-1(2)-0147
$N^α$-叔丁氧羰基-L-精氨酸盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0134
N-叔丁氧羰基-L-亮氨酸 Ⅲ-1(2)-0145
$N^α$-叔丁氧羰基-L-脯氨酸 Ⅲ-1(2)-0149
$N^α$-叔丁氧羰基-L-色氨酸 Ⅲ-1(2)-0155
叔丁氧羰基-4-叔丁酯天冬氨酸 Ⅲ-1(2)-0135
$N^α$-叔丁氧羰基-L-丝氨酸 Ⅲ-1(2)-0150
$N^α$-叔丁氧羰基-L-苏氨酸 Ⅲ-1(2)-0152
$N^α$-叔丁氧羰基-L-天冬氨酸-4-苄酯 Ⅲ-1(2)-0136
$N^α$-叔丁氧羰基-β-O-天冬氨酸叔丁酯 Ⅲ-1(2)-0135
$N^α$-叔丁氧羰基-L-天冬酰胺 Ⅲ-1(2)-0137
$N^α$-叔丁氧羰基-L-缬氨酸 Ⅲ-1(2)-0156
N-叔丁氧羰基-L-异白氨酸 Ⅲ-1(2)-0144
N-叔丁氧羰基-L-异亮氨酸 Ⅲ-1(2)-0144

N^{α}-叔丁氧羰酰-L-苯丙氨酸对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0012
N^{α}-叔丁氧羰酰-O-苄基-L-酪氨酸对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0013
N^{6}-叔丁氧羰酰-N^{α}-苄氧羰酰-L-赖氨酸对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0079
N-叔丁氧羰酰-L-丙氨酸对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0008
N^{α}-叔丁氧羰酰-L-谷氨酰胺对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0010
N-叔丁氧羰酰-L-甲硫氨酸对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0011
N^{α}-叔丁氧羰酰-L-天冬酰胺对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0009

shǔ

TDP鼠李糖 Ⅲ-4(2)-0043
UDP鼠李糖 Ⅲ-4(2)-0051

shuāng

双对硝基苯磷酸钙盐 Ⅲ-2(2)-0027

shuǐ

水粉蕈素 Ⅲ-4(2)-0022
N-(水粉蕈素-6-氨甲酰)-L-苏氨酸 Ⅲ-4(1)-0056

shùn

顺-2-氨基-3-羟基丁酸 Ⅲ-1(2)-0100

sī

D-丝氨酸 Ⅲ-1(1)-0099
DL-丝氨酸 Ⅲ-1(1)-0097
L-丝氨酸 Ⅲ-1(1)-0098
丝氨酸-O-磷酸酯 Ⅲ-1(2)-0126
DL-丝氨酸乙醇胺磷酸二酯 Ⅲ-1(2)-0125

sōng

D-松氨酸 Ⅲ-1(1)-0083
DL-松氨酸 Ⅲ-1(1)-0081
L-松氨酸 Ⅲ-1(1)-0082

sū

D-苏氨酸 Ⅲ-1(1)-0103
DL-苏氨酸 Ⅲ-1(1)-0101
L-苏氨酸 Ⅲ-1(1)-0102
N^{6}-苏氨酸羰基腺苷 Ⅲ-4(1)-0058
苏-β-羟基谷氨酸 Ⅲ-1(2)-0101
苏-β-羟基天冬氨酸 Ⅲ-1(2)-0099

suān

酸性磷酸酯酶(土豆) Ⅲ-2(1)-0053

suō

6-羧基尿苷 Ⅲ-4(2)-0023
6-羧基尿苷-5′-磷酸 Ⅲ-4(2)-0041
6-羧基尿嘧啶 Ⅲ-4(2)-0010
S-羧甲基-L-半胱氨酸 Ⅲ-1(2)-0075
5-羧甲基-2-硫代尿苷甲酯 Ⅲ-4(1)-0032
5-羧甲基尿苷 Ⅲ-4(1)-0013
羧甲基纤维素固定化木瓜蛋白酶 Ⅲ-2(3)-0013
羧甲基纤维素固定化无花果蛋白酶 Ⅲ-2(3)-0007
羧甲基纤维素固定化胰凝乳蛋白酶 Ⅲ-2(3)-0006
3-羧甲硫代丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0075
羧肽酶A(牛胰) Ⅲ-2(1)-0013
N^{α}-(1-羧乙基)-精氨酸 Ⅲ-1(2)-0120

T

tái

台尔明 Ⅲ-1(2)-0130

tài

肽链内切酶 Ⅲ-2(1)-0059
肽酰-L-氨基酸水解酶 Ⅲ-2(1)-0013

tán

弹性蛋白 Ⅲ-3(1)-0013
弹性蛋白-地衣红 Ⅲ-2(2)-0029
弹性蛋白-刚果红 Ⅲ-2(2)-0028
弹性蛋白酶 Ⅲ-2(1)-0025

tàn

碳氧血红蛋白(红细胞) Ⅲ-3(1)-0008

tiān

D-天冬氨酸 Ⅲ-1(1)-0025

DL-天冬氨酸 Ⅲ-1(1)-0023
L-天冬氨酸 Ⅲ-1(1)-0024
L-天冬氨酸-β-半醛 Ⅲ-1(2)-0067
L-天冬氨酸二甲酯盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0066
L-天冬氨酸二叔丁酯盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0065
β-L-天冬氨酸磷酸酯 Ⅲ-1(2)-0068
D-天冬酰胺 Ⅲ-1(1)-0022
DL-天冬酰胺 Ⅲ-1(1)-0020
L-天冬酰胺 Ⅲ-1(1)-0021
D-天门冬氨酸 Ⅲ-1(1)-0025
DL-天门冬氨酸 Ⅲ-1(1)-0023
L-天门冬氨酸 Ⅲ-1(1)-0024
D-天门冬酰胺 Ⅲ-1(1)-0022
DL-天门冬酰胺 Ⅲ-1(1)-0020
L-天门冬酰胺 Ⅲ-1(1)-0021

tián

甜菜碱 Ⅲ-1(2)-0073

tiě

铁传递蛋白 Ⅲ-3(1)-0034
铁蛋白（马脾） Ⅲ-3(1)-0014

tóng

同工凝集素AB_3 Ⅲ-3(2)-0005
同工凝集素A_2B_2 Ⅲ-3(2)-0004
同工凝集素A_3B Ⅲ-3(2)-0003
同工凝集素A_4 Ⅲ-3(2)-0002
同工凝集素B_4 Ⅲ-3(2)-0006

tòu

透明质酸酶（羊睾） Ⅲ-2(1)-0035

tuō

脱铁铁蛋白 Ⅲ-3(1)-0005
脱氧胞苷 Ⅲ-4(1)-0016
脱氧胞苷-5′-三磷酸 Ⅲ-4(1)-0072
1-β-2′-脱氧呋喃核糖基-4-甲氨-2-嘧啶酮 Ⅲ-4(1)-0038
脱氧核糖核酸甲基绿 Ⅲ-2(2)-0014
脱氧核糖核酸聚合酶(T_4噬菌体感染的E.coli) Ⅲ-2(1)-0022
脱氧核糖核酸酶Ⅰ（牛胰） Ⅲ-2(1)-0020
脱氧核糖核酸酶Ⅱ（猪脾） Ⅲ-2(1)-0021
2′-脱氧-6-甲氨基-9-β-D-呋喃核糖基嘌呤 Ⅲ-4(1)-0033
脱氧鸟苷 Ⅲ-4(1)-0017
脱氧鸟苷-5′-三磷酸 Ⅲ-4(1)-0073
脱氧尿苷 Ⅲ-4(1)-0018
脱氧尿苷-5′-三磷酸 Ⅲ-4(1)-0075
脱氧腺苷 Ⅲ-4(1)-0015
S-(5′-脱氧腺苷-5′)-高半胱氨酸 Ⅲ-1(2)-0053
S-(5′-脱氧腺苷-5′)-甲硫氨酸盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0054
脱氧腺苷-5′-三磷酸 Ⅲ-4(1)-0071
脱氧胸苷 Ⅲ-4(1)-0057
脱氧胸苷-5′-三磷酸 Ⅲ-4(1)-0074

tuò

CMP唾液酸 Ⅲ-4(2)-0031

W

wèi

胃蛋白酶（猪胃粘膜） Ⅲ-2(1)-0051

wú

无花果蛋白酶 Ⅲ-2(1)-0026

wù

戊二酰-L-苯丙氨酸对硝基苯胺 Ⅲ-2(2)-0019

X

xì

细胞色素C Ⅲ-2(1)-0019

xiān

纤维素酶 Ⅲ-2(1)-0015
N-酰化氨基酸酰氨基水解酶 Ⅲ-2(1)-0003
酰基转移酶Ⅰ Ⅲ-2(1)-0003

xiàn

限制性核酸内切酶 Ⅲ-2(1)-0062
腺二磷 Ⅲ-4(1)-0061
腺二磷酶 Ⅲ-2(1)-0004
腺三磷酶 Ⅲ-2(1)-0082

腺苷 Ⅲ-4(1)-0011
腺苷二磷酸 Ⅲ-4(1)-0061
腺苷-5'-二磷酸 Ⅲ-4(1)-0061
5'-腺苷二磷酸酶 Ⅲ-2(1)-0004
5'-腺苷三磷酸酶 Ⅲ-2(1)-0082
腺苷-5'-二磷酸-D-葡(萄)糖 Ⅲ-4(2)-0030
S-腺苷-L-高半胱氨酸 Ⅲ-1(2)-0053
腺苷-2',3'-环磷酸 Ⅲ-4(2)-0027
腺苷-3',5'-环磷酸 Ⅲ-4(2)-0028
S-腺苷甲硫氨酸盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0054
腺苷-3',5'-焦磷酸 Ⅲ-4(2)-0029
腺苷-2'-磷酸 Ⅲ-4(1)-0062
腺苷-3'-磷酸 Ⅲ-4(1)-0063
腺苷-5'-磷酸 Ⅲ-4(1)-0064
腺苷-5'-三磷酸 Ⅲ-4(1)-0065
腺苷酸 Ⅲ-4(1)-0064
腺苷酸 a Ⅲ-4(1)-0062
腺苷酸 b Ⅲ-4(1)-0063
腺苷酸激酶 Ⅲ-2(1)-0046
腺苷-5'-磷酸 Ⅲ-4(1)-0064
腺嘌呤 Ⅲ-4(1)-0001
腺嘌呤核苷 Ⅲ-4(1)-0011
腺嘌呤脱氧核苷 Ⅲ-4(1)-0015
腺嘌呤脱氧核糖-5'-三磷酸 Ⅲ-4(1)-0071
腺三磷 Ⅲ-4(1)-0065
腺一磷 Ⅲ-4(1)-0064

xiāo

4-硝基苯-α-D-吡喃半乳糖苷 Ⅲ-2(2)-0056
2-硝基-4-羧苯基-N,N-二苯基
　氨基甲酸 Ⅲ-2(2)-0049

xié

D-缬氨酸 Ⅲ-1(1)-0118
DL-缬氨酸 Ⅲ-1(1)-0116
L-缬氨酸 Ⅲ-1(1)-0117

xīn

心肌黄酶 Ⅲ-2(1)-0023

xiōng

胸苷 Ⅲ-4(1)-0057
胸苷-5'-二磷酸-D-葡(萄)糖 Ⅲ-4(2)-0042
胸苷-5'-二磷酸-L-鼠李糖 Ⅲ-4(2)-0043
胸苷-5'-三磷酸 Ⅲ-4(1)-0074
胸腺嘧啶 Ⅲ-4(1)-0008
胸腺嘧啶脱氧核苷 Ⅲ-4(1)-0057
胸腺嘧啶脱氧核糖-5'-三磷酸 Ⅲ-4(1)-0074

xiù

5-溴脱氧尿苷 Ⅲ-4(2)-0017

xuè

血红蛋白 Ⅲ-3(1)-0023
血蓝蛋白 Ⅲ-3(1)-0022
血纤维蛋白 Ⅲ-3(1)-0015
血纤维蛋白-蓝 Ⅲ-2(2)-0030
血纤维蛋白原 Ⅲ-3(1)-0016

Y

yà

N-亚氨代甲基甘氨酸 Ⅲ-1(2)-0093
N-亚氨代甲基谷氨酸 Ⅲ-1(2)-0092
α,α'-亚胺基-(δ-胍基戊酸) 丙
　酸 Ⅲ-1(2)-0120
N-亚胺甲基甘氨酸 Ⅲ-1(2)-0093
N-亚胺甲基-L-谷氨酸 Ⅲ-1(2)-0092
亚牛磺酸 Ⅲ-1(2)-0108

yān

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸激酶(鸽
　肝) Ⅲ-2(1)-0047

yán

GDP岩藻糖 Ⅲ-4(2)-0039

yī

一磷酸胞苷 Ⅲ-4(1)-0069
一磷酸鸟苷 Ⅲ-4(1)-0079
一磷酸尿苷 Ⅲ-4(1)-0085
一磷酸腺苷 Ⅲ-4(1)-0064

yí

胰蛋白酶 (牛胰) Ⅲ-2(1)-0076
胰蛋白酶原 (牛胰) Ⅲ-2(1)-0077

胰岛素 Ⅲ-3(1)-0035
胰高血糖素 Ⅲ-3(1)-0021
α-胰凝乳蛋白酶（牛胰） Ⅲ-2(1)-0016
α-胰凝乳蛋白酶原A（牛胰） Ⅲ-2(1)-0017
胰肽酶E Ⅲ-2(1)-0025

yǐ

2-乙氨基亚磺酸 Ⅲ-1(2)-0108
CDP乙醇胺 Ⅲ-4(2)-0034
D-S-乙基高半胱氨酸 Ⅲ-1(1)-0040
DL-S-乙基高半胱氨酸 Ⅲ-1(1)-0038
L-S-乙基高半胱氨酸 Ⅲ-1(1)-0039
D-乙硫氨酸 Ⅲ-1(1)-0040
DL-乙硫氨酸 Ⅲ-1(1)-0038
L-乙硫氨酸 Ⅲ-1(1)-0039
乙酸对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0051
乙酸：辅酶A连接酶[产生AMP] Ⅲ-2(1)-0002
乙酸邻硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0050
乙酸硫激酶 Ⅲ-2(1)-0002
L-2-乙酰氨基-6-氨基乙酸 Ⅲ-1(2)-0026
D-6-乙酰氨基-2-氨基己酸 Ⅲ-1(2)-0028
L-6-乙酰氨基-2-氨基己酸 Ⅲ-1(2)-0027
L-2-乙酸氨基-5-氨基戊酸 Ⅲ-1(2)-0035
α-乙酰-D-氨基丙酸 Ⅲ-1(2)-0003
α-乙酰-DL-氨基丙酸 Ⅲ-1(2)-0001
α-乙酰-L-氨基丙酸 Ⅲ-1(2)-0002
α-乙酰-D-氨基丁二酸 Ⅲ-1(2)-0010
α-乙酰-DL-氨基丁二酸 Ⅲ-1(2)-0008
α-乙酰-L-氨基丁二酸 Ⅲ-1(2)-0009
α-乙酰-D-氨基琥珀酸 Ⅲ-1(2)-0010
α-乙酰-DL-氨基琥珀酸 Ⅲ-1(2)-0008
α-乙酰-L-氨基琥珀酸 Ⅲ-1(2)-0009
N-乙酰-β-氨基葡糖萘酚AS-LC Ⅲ-2(2)-0023
DL-2-乙酰氨基-3-羟基丙酰 Ⅲ-1(2)-0040
L-2-乙酰氨基-3-羟基丙酸 Ⅲ-1(2)-0041
N-乙酰氨基-β-羟基-3,5-二硝基苯丙酸甲酯 Ⅲ-1(2)-0016
N-乙酰-D-α-氨基氢化肉桂酸 Ⅲ-1(2)-0038
N-乙酰-DL-α-氨基氢化肉桂酸 Ⅲ-1(2)-0036
N-乙酰-L-α-氨基氢化肉桂酸 Ⅲ-1(2)-0037
α-乙酰氨基-γ-L-乙酰氨基丁二酸 Ⅲ-1(2)-0007
D-α-乙酰氨基异戊酸 Ⅲ-1(2)-0052
L-α-乙酰氨基异戊酸 Ⅲ-1(2)-0051
D-N-乙酰胺基苯丙酸 Ⅲ-1(2)-0038
DL-N-乙酰胺基苯丙酸 Ⅲ-1(2)-0036
L-N-乙酰胺基苯丙酸 Ⅲ-1(2)-0037
L-α-乙酰胺基-β-巯基丙酸 Ⅲ-1(2)-0011
D-2-乙酰胺基戊二酸 Ⅲ-1(2)-0020
DL-2-乙酰胺基戊二酸 Ⅲ-1(2)-0018
L-2-乙酰胺基戊二酸 Ⅲ-1(2)-0019
L-2-乙酰胺基戊酰氨酸 Ⅲ-1(2)-0017
N-乙酰胺基乙酸 Ⅲ-1(2)-0021
α-乙酰胺基异戊酸 Ⅲ-1(2)-0050
D-α-N-乙酰胺基-β-吲哚丙酸 Ⅲ-1(2)-0046
DL-α-N-乙酰胺基-β-吲哚丙酸 Ⅲ-1(2)-0044
L-α-N-乙酰胺基-β-吲哚丙酸 Ⅲ-1(2)-0045
L-乙酰胺基吲哚-3-丙酰胺 Ⅲ-1(2)-0047
N^{α}-乙酰-L-白氨酸 Ⅲ-1(2)-0025
N-乙酰-L-半胱氨酸 Ⅲ-1(2)-0011
N^{4}-乙酰胞苷 Ⅲ-4(1)-0010
N-乙酰-D-苯丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0038
N-乙酰-DL-苯丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0036
N-乙酰-L-苯丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0037
N-乙酰-L-苯丙氨酸对硝基苯胺 Ⅲ-2(2)-0001
N-乙酰-D-丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0003
N-乙酰-DL-丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0001
N-乙酰-L-丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0002
N-乙酰-D-穿心排草氨基酸 Ⅲ-1(2)-0052
N-乙酰-DL-穿心排草氨基酸 Ⅲ-1(2)-0050
N-乙酰-L-穿心排草氨基酸 Ⅲ-1(2)-0051
乙酰胆碱酯酶 Ⅲ-2(1)-0001
N-乙酰-D-蛋氨酸 Ⅲ-1(2)-0032
N-乙酰-DL-蛋氨酸 Ⅲ-1(2)-0030
N-乙酰-L-蛋氨酸 Ⅲ-1(2)-0031
N-α-乙酰-DL-蛋白氨基酰 Ⅲ-1(2)-0004
N-乙酰-L-蛋白氨基酸 Ⅲ-1(2)-0005
N-乙酰-L-蛋白氨基酸 Ⅲ-1(2)-0006
N-乙酰-D-碘珊氨酸 Ⅲ-1(2)-0014
N-乙酰-DL-碘珊氨酸 Ⅲ-1(2)-0012
N-乙酰-L-碘珊氨酸 Ⅲ-1(2)-0013
N-乙酰-L-对硝基苯丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0048
N-乙酰-L-3-(对羟基苯)丙氨酸乙酯 Ⅲ-1(2)-0049
N-乙酰-3,5-二碘-D-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0014
N-乙酰-3,5-二碘-DL-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0012
N-乙酰-3,5-二碘-L-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0013

N-乙酰-(3,5-二碘-4-羟基)-苯丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0014
N-乙酰-DL-β-(3,5-二碘-4-羟基)-苯丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0012
N-乙酰-L-β-(3,5-二碘-4-羟基)-苯丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0013
N-乙酰-3,5-二硝基-L-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0015
N-乙酰-3,5-二硝基-L-酪氨酸乙酯 Ⅲ-1(2)-0016
N-乙酰-L-β-(3,5-二硝基-4-羟基) 苯丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0015
S-乙酰辅酶A合成酶 Ⅲ-2(1)-0002
N-乙酰甘氨酸 Ⅲ-1(2)-0021
N-乙酰-D-谷氨酸 Ⅲ-1(2)-0020
N-乙酰-DL-谷氨酸 Ⅲ-1(2)-0018
N-乙酰-L-谷氨酸 Ⅲ-1(2)-0019
N^{α}-乙酰-L-谷氨酰胺 Ⅲ-1(2)-0017
N-乙酰-L-谷酰胺 Ⅲ-1(2)-0017
乙酰-DL-甲硫氨基丁酸 Ⅲ-1(2)-0030
N-乙酰-D-甲硫氨酸 Ⅲ-1(2)-0032
N-乙酰-DL-甲硫氨酸 Ⅲ-1(2)-0030
N-乙酰-L-甲硫氨酸 Ⅲ-1(2)-0031
N-乙酰-D-精氨酸 Ⅲ-1(2)-0006
N-乙酰-DL-精氨酸 Ⅲ-1(2)-0004
N-乙酰-L-精氨酸 Ⅲ-1(2)-0005
N^{ε}-乙酰-D-赖氨酸 Ⅲ-1(2)-0028
N^{α}-乙酰-L-赖氨酸 Ⅲ-1(2)-0026
N^{ε}-乙酰-L-赖氨酸 Ⅲ-1(2)-0027
N^{α}-乙酰-L-赖氨酸甲酯盐酸盐 Ⅲ-1(2)-0029
N-乙酰-L-酪氨酸 Ⅲ-1(2)-0048
N-乙酰-L-酪氨酸乙酯 Ⅲ-1(2)-0049
N^{α}-乙酰-L-亮氨酸 Ⅲ-1(2)-0025
N^{α}-乙酰-L-鸟氨酸 Ⅲ-1(2)-0035
N^{α}-乙酰-L-鸟粪氨基酸 Ⅲ-1(2)-0035
N-乙酰-DL-脯氨酸 Ⅲ-1(2)-0039
N-乙酰-4-羟基吡咯烷-2-羧酸 Ⅲ-1(2)-0024
N-乙酰-L-羟脯氨酸 Ⅲ-1(2)-0024
乙酰氢化吡咯甲酸 Ⅲ-1(2)-0039
N-乙酰-3-巯基丙氨酸 Ⅲ-1(2)-0011
N-乙酰-3-巯基-D-缬氨酸 Ⅲ-1(2)-0033
N^{α}-乙酰-D-色氨酸 Ⅲ-1(2)-0046
N^{α}-乙酰-DL-色氨酸 Ⅲ-1(2)-0044
N-乙酰-L-色氨酸 Ⅲ-1(2)-0045
N-乙酰-L-色氨酰胺 Ⅲ-1(2)-0047
N-乙酰-DL-丝氨酸 Ⅲ-1(2)-0040
N-乙酰-L-丝氨酸 Ⅲ-1(2)-0041
O-乙酰-DL-丝氨酸 Ⅲ-1(2)-0042
O-乙酰-L-丝氨酸 Ⅲ-1(2)-0043
N-乙酰-D-天冬氨酸 Ⅲ-1(2)-0010
N-乙酰-DL-天冬氨酸 Ⅲ-1(2)-0008
N-乙酰-L-天冬氨酸 Ⅲ-1(2)-0009
N-乙酰-天冬素 Ⅲ-1(2)-0007
N-乙酰-L-天冬酰胺 Ⅲ-1(2)-0007
N-乙酰-D-缬氨酸 Ⅲ-1(2)-0052
N-乙酰-DL-缬氨酸 Ⅲ-1(2)-0050
N-乙酰-L-缬氨酸 Ⅲ-1(2)-0051
N-乙酰正白氨酸 Ⅲ-1(2)-0034
N-乙酰-正亮氨酸 Ⅲ-1(2)-0034
N^{α}-乙酰-DL-组氨酸 Ⅲ-1(2)-0023
N^{α}-乙酰-L-组氨酸 Ⅲ-1(2)-0022
N-乙酰-DL-组织氨基酸 Ⅲ-1(2)-0023
N-乙酰-L-组织氨基酸 Ⅲ-1(2)-0022

yì

D-异白氨酸 Ⅲ-1(1)-0072
DL-异白氨酸 Ⅲ-1(1)-0070
L-异白氨酸 Ⅲ-1(1)-0071
D-异亮氨酸 Ⅲ-1(1)-0072
DL-异亮氨酸 Ⅲ-1(1)-0070
L-异亮氨酸 Ⅲ-1(1)-0071
异硫氰酸荧光素标记A蛋白 Ⅲ-3(1)-0017
异鸟苷 Ⅲ-4(2)-0020
异鸟嘌呤 Ⅲ-4(2)-0005
异柠檬酸脱氢酶（猪心） Ⅲ-2(1)-0036
N^{6}-(Δ^{2}-异戊烯基)-2-甲硫基腺苷 Ⅲ-4(1)-0031
N^{6}-(Δ^{2}-异戊烯基)腺苷 Ⅲ-4(1)-0030
D-异缬氨酸 Ⅲ-1(1)-0121
DL-异缬氨酸 Ⅲ-1(1)-0119
L-异缬氨酸 Ⅲ-1(1)-0120

yīn

HG因子 Ⅲ-3(1)-0021

yìng

硬脂酸对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0069

yú

鱼精蛋白 Ⅲ-3(1)-0032

yù

玉米苷 Ⅲ-4(1)-0060
玉米素 Ⅲ-4(2)-0001
玉米素核苷 Ⅲ-4(1)-0060

yuè

月桂酸对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0061

Z

zhāng

章鱼碱 Ⅲ-1(2)-0120

zhèng

D-正白氨酸 Ⅲ-1(1)-0080
DL-正白氨酸 Ⅲ-1(1)-0078
L-正白氨酸 Ⅲ-1(1)-0079
正丁酸对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0053
正己酸对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0054
D-正亮氨酸 Ⅲ-1(1)-0080
DL-正亮氨酸 Ⅲ-1(1)-0078
L-正亮氨酸 Ⅲ-1(1)-0079
正戊酸对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0072
D-正缬氨酸 Ⅲ-1(1)-0124
DL-正缬氨酸 Ⅲ-1(1)-0122
L-正缬氨酸 Ⅲ-1(1)-0123

zhī

脂肪酶（猪胰） Ⅲ-2(1)-0042

zhí

植物血球凝集素 Ⅲ-3(2)-0008

zōng

棕榈酸对硝基苯酯 Ⅲ-2(2)-0065

zǔ

D-组氨酸 Ⅲ-1(1)-0050
DL-组氨酸 Ⅲ-1(1)-0048
L-组氨酸 Ⅲ-1(1)-0049
组蛋白（小牛胸腺） Ⅲ-3(1)-0024

英文名称索引

说　　明

本索引收入本分册全部试剂中英文名称（包括以外文字母形式出现的缩写词），名称后的数字为试剂编号。

A

N-Acetamido acetic acid Ⅲ-1(2)-0021
2-Acetamido-2-deoxy-*β*-D-glucosidoxy naphthol AS-LC Ⅲ-2(2)-0023
L-2-Acetamido glutaramic acid Ⅲ-1(2)-0017
D-2-Acetamido glutaric acid Ⅲ-1(2)-0020
DL-2-Acetamido glutaric acid Ⅲ-1(2)-0018
L-2-Acetamidoglutaric acid Ⅲ-1(2)-0019
L-Acetamido-indol-3-propionamide Ⅲ-1(2)-0047
DL-*α*-Acetamido-indol-3-propionic acid Ⅲ-1(2)-0044
L-*α*-Acetamido-*β*-mercaptopropionic acid Ⅲ-1(2)-0011
L-*α*-Acetamidoindol-3-propionic acid Ⅲ-1(2)-0045
2-Acetamido-4-(methylthio) butyric acid Ⅲ-1(2)-0030
Acetate, COA ligase [AMP forming] Ⅲ-2(1)-0002
Acetate thiokinase Ⅲ-2(1)-0002
Aceturic acid Ⅲ-1(2)-0021
N-Acetyl-D-alanine Ⅲ-1(2)-0003
N-Acetyl-DL-alanine Ⅲ-1(2)-0001
N-Acetyl-L-alanine Ⅲ-1(2)-0002
D-*α*-Acetylamidoindol-3-propionic acid Ⅲ-1(2)-0046
Acetylamino acetic acid Ⅲ-1(2)-0021
α-Acetylamino-r-acetyl-amino butanedioic acid Ⅲ-1(2)-0007
L-2-Acetylamino-5-aminopentanoic acid Ⅲ-1(2)-0035
α-Acetyl-D-aminobutanedioic acid Ⅲ-1(2)-0010
α-Acetyl-DL-amino butanedioic acid Ⅲ-1(2)-0008
α-Acetyl-L-aminobutanedioic acid Ⅲ-1(2)-0009
N-Acetyl-D-*α*-aminohydrocinnamic acid Ⅲ-1(2)-0038
N-Acetyl-DL-*α*-aminohydrocinnamic acid Ⅲ-1(2)-0036
N-Acetyl-L-*α*-aminohydrocinnamic acid Ⅲ-1(2)-0037
N-Acetylamino-*β*-hydroxy-3,5-dinitrophenyl propionate ethyl ester Ⅲ-1(2)-0016
Dl-2-Acetylamino-3-hydroxyoropionic acid Ⅲ-1(2)-0040
L-2-Acetyl-amino-3-hydroxypropionic acid Ⅲ-1(2)-0041
D-*α*-*N*-Acetylamino-*β*-indolypropionic acid Ⅲ-1(2)-0046
DL-*α*-*N*-Acetylamino-*β*-indolypropionic acid Ⅲ-1(2)-0044
L-*α*-*N*-Acetylamino-*β*-indolpropionic acid Ⅲ-1(2)-0045
D-*α*-Acetylamino-isovaleric acid Ⅲ-1(2)-0052
DL-*α*-Acetylamino-isovaleric acid Ⅲ-1(2)-0050
L-*α*-Acetylamino isovaleric acid Ⅲ-1(2)-0051
DL-Acetylamino-*γ*-methylmercapto butyric acid Ⅲ-1(2)-0030
DL-1-Acetylamino-3-methylmercaptopropane

carboxylic acid Ⅲ-1(2)-0030
DL-2-Acetylamino-4-methylthiobutanoic acid Ⅲ-1(2)-0030
N-Acetyl-D-α-amino-β-phenylpropionic acid Ⅲ-1(2)-0038
N-Acetyl-DL-α-amino-β-phenylpropionic acid Ⅲ-1(2)-0036
N-Acetyl-L-α-amino-β-phenylpropionic acid Ⅲ-1(2)-0037
α-Acetyl-D-aminopropionic acid Ⅲ-1(2)-0003
α-Acetyl-DL-aminopropionic acid Ⅲ-1(2)-0001
α-Acetyl-L-aminopropionic acid Ⅲ-1(2)-0002
α-Acetyl-D-aminosuccinic acid Ⅲ-1(2)-0010
α-Acetyl-DL-aminosuccinic acid Ⅲ-1(2)-0008
α-Acetyl-L-aminosuccinic acid Ⅲ-1(2)-0008
N-Acetyl-D-arginine Ⅲ-1(2)-0006
N-Acetyl-DL-arginine Ⅲ-1(2)-0004
N-Acetyl-L-arginine Ⅲ-1(2)-0005
N-Acetyl-L-asparagine Ⅲ-1(2)-0007
N-Acetyl-D-aspartic acid Ⅲ-1(2)-0010
N-Acetyl-DL-aspartic acid Ⅲ-1(2)-0008
N-Acetyl-L-aspartic acid Ⅲ-1(2)-0009
Acetylcholine acetylhydrolase Ⅲ-2(1)-0001
Acetyl cholinesterase Ⅲ-2(1)-0001
S-Acetyl coenzyme A synthetase Ⅲ-2(1)-0002
N-Acetyl-L-cysteine Ⅲ-1(2)-0011
N^4-Acetylcytidine Ⅲ-4(2)-0010
N-Acetyl-D-3,5-diiodo-4-hydroxy-β-phenylalanine Ⅲ-1(2)-0014
N-Acetyl-DL-(3,5-diiodo-4-hydroxy)-β-phenylalanine Ⅲ-1-(2)-0012
N-Acetyl-L-3,5-diiodo-4-hydroxy-β-phenylalanine Ⅲ-1(2)-0013
N-Acetyl-3,5-diiodo-D-tyrosine Ⅲ-1(2)-0014
N-Acetyl-3,5-diiodo-DL-tyrosine Ⅲ-1(2)-0012
N-Acetyl-3,5-diiodo-L-tyrosine Ⅲ-1(2)-0013
N-Acetyl-L-3,5-dinitro-4-hydroxy-β-phenylalanine Ⅲ-1(2)-0015
N-Acetyl-3,5-dinitro-L-tyrosine Ⅲ-1(2)-0015
N-Acetyl-3,5-dinitro-L-tyrosine ethyl-ester Ⅲ-1(2)-0016
N-Acetyl-β-glucosamine naphthol AS-LC Ⅲ-2(2)-0023
N-Acetyl-D-glutamic acid Ⅲ-1(2)-0020
N-Acetyl-DL-glutamic acid Ⅲ-1(2)-0018
N-Acetyl-L-glutamic acid Ⅲ-1(2)-0019
N-Acetyl-L-glutamine Ⅲ-1(2)-0017
N-Acetylglycine Ⅲ-1(2)-0021
Acetylglycocoll Ⅲ-1(2)-0021
N-Acetyl-DL-histidine Ⅲ-1(2)-0023
N-Acetyl-L-histidine Ⅲ-1(2)-0022
N-Acetyl-L-*p*-hydroxyphenylalanine Ⅲ-1(2)-0048
N-Acetyl-L-hydroxyproline Ⅲ-1(2)-0024
N-Acetyl-4-hydroxy pyrrolidine-2-carboxylic acid Ⅲ-1(2)-0024
N-Acetyl-D-iodogorgoic acid Ⅲ-1(2)-0014
N-Acetyl-DL-iodo-gorgoic acid Ⅲ-1(2)-0012
N-Acetyl-L-iodogorgoic acid Ⅲ-1(2)-0013
N-Acetyl-L-leucine Ⅲ-1(2)-0025
N-Acetyl-L-lysine Ⅲ-1(2)-0026
N^6-Acetyl-D-lysine Ⅲ-1(2)-0028
N^6-Acetyl-L-lysine Ⅲ-1(2)-0027
N^{α}-Acetyl-L-lysine methyl ester hydrochloride Ⅲ-1(2)-0029
N-Acetyl-3-mercaptoalanine Ⅲ-1(2)-0011
N-Acetyl-3-mercapto-D-valine Ⅲ-1(2)-0033
N-Acetyl-D-methionine Ⅲ-1(2)-0032
N-Acetyl-DL-methionine Ⅲ-1(2)-0030
N-Acetyl-L-methionine Ⅲ-1(2)-0031
N-Acetyl-norleucine Ⅲ-1(2)-0034
N^{α}-Acetyl-L-ornithine Ⅲ-1(2)-0035
N-Acetylpenicillamine Ⅲ-1(2)-0033
N-Acetyl-D-phenylalanine Ⅲ-1(2)-0038
N-Acetyl-D-β-phenylalanine Ⅲ-1(2)-0038

N-Acetyl-DL-phenylalanine Ⅲ-1(2)-0036
N-Acetyl-DL-β-phenylalanine Ⅲ-1(2)-0036
N-Acetyl-L-phenylalanine Ⅲ-1(2)-0037
N-Acetyl-L-β-phenylalanine Ⅲ-1(2)-0037
N-Acetyl-L-phenylalanine-*p*-nitroanilide Ⅲ-2(2)-0001
N-Acetyl-DL-proline Ⅲ-1(2)-0039
N-Acetyl-DL-serine Ⅲ-1(2)-0040
N-Acetyl-L-serine Ⅲ-1(2)-0041
O-Acetyl-DL-serine Ⅲ-1(2)-0042
O-Acetyl-L-serine Ⅲ-1(2)-0043
N^{α}-Acetyl-D-tryptophan Ⅲ-1(2)-0046
N^{α}-Acetyl-DL-tryptophan Ⅲ-1(2)-0044
N^{α}-Acetyl-L-tryptophan Ⅲ-1(2)-0045
N^{α}-Acetyl-L-tryptophanamide Ⅲ-1(2)-0047
N-Acetyl-L-tyrosine Ⅲ-1(2)-0048
N-Acetyl-L-tyrosine ethyl ester Ⅲ-1(2)-0049
N-Acetyl-DL-valine Ⅲ-1(2)-0050
N-Acetyl-D-valine Ⅲ-1(2)-0052
N-Acetyl-L-valine Ⅲ-1(2)-0051
Actin(rabbit muscle) Ⅲ-3(1)-0001
Active methionine Ⅲ-1(2)-0054
N-Acylamino acid amidohydrolase Ⅲ-2(1)-0003
Acylase Ⅰ Ⅲ-2(1)-0003
Adenine Ⅲ-4(1)-0001
Adenine deoxyribose 5′-triphosphate Ⅲ-4(1)-0071
Adenine deoxyriboside Ⅲ-4(1)-0015
Adenine riboside Ⅲ-4(1)-0011
Adenosine Ⅲ-4(1)-0011
Adenosine 2′,3′-cyclic phosphate Ⅲ-4(2)-0027
Adenosine 3′,5′-cyclic phosphate Ⅲ-4(2)-0028
Adenosine-5′-diphosphatase Ⅲ-2(1)-0004
Adenosine-5′-diphosphate Ⅲ-4(1)-0061
Adenosine-5′-diphosphate-D-glucose Ⅲ-4(2)-0030
Adenosine-5′-monophosphate Ⅲ-4(1)-0064
Adenosine-2′-phosphate Ⅲ-4(1)-0062
Adenosine-3-phosphate Ⅲ-4(1)-0063
Adenosine-5′-phosphate Ⅲ-4(1)-0064
Adenosine-3′,5′-pyrophosphate Ⅲ-4(2)-0029
Adenosine-5′-triphosphatase Ⅲ-2(1)-0082
Adenosine-5′-triphosphate Ⅲ-4(1)-0065
S-Adenosylhomocysteine Ⅲ-1(2)-0053
S-Adenosyl-methionine chloride Ⅲ-1(2)-0054
Adenylate kinase Ⅲ-2(1)-0046
Adenylic acid Ⅲ-4(1)-0064
Adenylic acid a Ⅲ-4(1)-0062
Adenylic acid b Ⅲ-4(1)-0063
ADH Ⅲ-2(1)-0005
ADH Ⅲ-2(1)-0082
ADP Ⅲ-4(1)-0061
5′-ADP Ⅲ-4(1)-0061
ADPG Ⅲ-4(2)-0030
ADP-gluc se Ⅲ-4(2)-0030
Agglucostinin(Triticum vulgare) Ⅲ-3(2)-0001
ALA Ⅲ-1(2)-0058
D-Alanine Ⅲ-1(1)-0003
DL-Alanine Ⅲ-1(1)-0001
L-Alanine Ⅲ-1(1)-0002
L-Alanine methyl ester hydrochloride Ⅲ-1(2)-0055
β-Alanine Ⅲ-1(1)-0004
L-Alanine-2-naphthylamide Ⅲ-2(2)-0002
L-Alanine-β-naphthylamide Ⅲ-2(2)-0002
Albumin, bovine methylated Ⅲ-3(1)-0004
Albumin, bovine serum Ⅲ-3(1)-0002
Albumin, chicken egg Ⅲ-3(1)-0003
Alcohol dehydrogenase Ⅲ-2(1)-0005
Alcohol; NAD⁺ oxidoreductase Ⅲ-2(1)-0005
Aldolase Ⅲ-2(1)-0006
Alkanal reduced-FMN-oxygen oxidoreductase(1-hydroxylating, luminescing) Ⅲ-2(1)-0043
D-*N*-8-Amidino ornithine Ⅲ-1(1)-0019
DL-*N*-8-Amidino ornithine Ⅲ-1(1)-0017
L-*N*-8-Amidino ornithine Ⅲ-1(1)-0018
Aminoacetic acid Ⅲ-1(1)-0047

D-Amino acid oxidase Ⅲ-2(1)-0007
L-Amino acid oxidase Ⅲ-2(1)-0008
D-Amino acid; oxygen oxidoreductase [deaminating] Ⅲ-2(1)-0007
L-Amino acid; oxygen oxidoseductase [deaminating] Ⅲ-2(1)-0008
Aminoacylase Ⅲ-2(1)-0003
α-Aminoacylpeptide hydrolase (cytosol) Ⅲ-2(1)-0040
α-Aminoacyl-peptide hydrolase [microsomal] Ⅲ-2(1)-0041
D-α-Aminoadipic acid Ⅲ-1(1)-0007
DL-α-Aminoadipic acid Ⅲ-1(1)-0005
L-α-Aminoadipic acid Ⅲ-1(1)-0006
2-Amino-3-benzyloxy -propionic acid Ⅲ-1(2)-0071
D-2-Amino-n-butyric acid Ⅲ-1(1)-0010
D-α-Aminobutyric acid Ⅲ-1(1)-0010
DL-2-Amino-*n*-butyric acid Ⅲ-1(1)-0008
DL-3-Amino-*n*-butyric acid Ⅲ-1(1)-0125
DL-α-Aminobutyric acid Ⅲ-1(1)-0008
DL-β-Aminobutyric acid Ⅲ-1(1)-0125
L-2-Amino-*n*-butyric acid Ⅲ-1(1)-0009
L-α-Aminobutyric acid Ⅲ-1(1)-0009
4-Amino-*n*-butyric acid Ⅲ-1(1)-0011
γ-Aminobutyric acid Ⅲ-1(1)-0011
α-Amino-*n*-butyric acid methyl ester hydrochloride Ⅲ-1(2)-0056
DL-γ-Aminobutyrine Ⅲ-1(1)-0036
L-γ-Aminobutyrine Ⅲ-1(1)-0037
6-Aminocaproic acid Ⅲ-1(1)-0126
ε-Aminocaproic acid Ⅲ-1(1)-0126
DL-2-Aminocaprylic acid Ⅲ-1(1)-0127
1-Aminocyclopentane-1-carboxylic acid Ⅲ-1(1)-0129
2-Aminoethane sulfonic acid Ⅲ-1(1)-0100
Aminoethanoic acid Ⅲ-1(1)-0047
S-Aminoethyl-L-cysteine hydrochloride Ⅲ-1(2)-0057
p-(β-Aminoethyl)-phenol Ⅲ-1(2)-0130
D-α-Amino-4-(ethylthio)-butyric acid Ⅲ-1(1)-0040
DL-α-Amino-4-(ethylthio)-buthric acid Ⅲ-1(1)-0038
L-α-Amino-4-(ethylthio)-butyric acid Ⅲ-1(1)-0039
D-α-Aminoglutamic acid Ⅲ-1(1)-0046
DL-α-Aminoglutamic acid Ⅲ-1(1)-0044
L-α-Aminoglutamic acid Ⅲ-1(1)-0045
D-α-Aminoglutaric acid Ⅲ-1(1)-0043
DL-α-Aminoglutaric acid Ⅲ-1(1)-0041
L-α-Aminoglutaric acid Ⅲ-1(1)-0042
D-α-Amino-δ-guanidinovaleric acid Ⅲ-1(1)-0019
DL-α-Amino-δ-guanidinovaleric acid Ⅲ-1(1)-0017
L-α-Amino-δ-guanidinovaleric acid Ⅲ-1(1)-0018
α-Amino-γ-guanidioxyn-butyric acid Ⅲ-1(1)-0026
α-Amino-(*O*-guanidyl)-γ-hydroxy-butyric acid Ⅲ-1(1)-0026
D-2-Aminohexanedoic acid Ⅲ-1(1)-0007
DL-2-Aminohexanedoic acid Ⅲ-1(1)-0005
L-2-Aminohexanedoic acid Ⅲ-1(1)-0006
D-Amino-hexanoic acid Ⅲ-1(1)-0080
DL-2-Aminohexanoic acid Ⅲ-1(1)-0078
L-Amino-hexanoic acid Ⅲ-1(1)-0079
6-Aminohexonic acid Ⅲ-1(1)-0126
cis-2-Amino-3-hydrobutyric acid Ⅲ-1(2)-0100
DL-α-Aminohydrocinnamic acid Ⅲ-1(1)-0090
L-α-Aminohydrocinnamic acid Ⅲ-1(1)-0091
D-2-Amino-4-hydroxy-*n*-butyric acid Ⅲ-1(1)-0059
DL-2-Amino-4-hydroxy-*n*-butyric acid Ⅲ-1(1)-0057
L-2-Amino-4-hydroxy-*n*-butyric acid Ⅲ-1(1)-0058
D-α-Aminohydrocinnamic acid Ⅲ-1(1)-0092
D-α-Amino-β-hydroxy-*n*-butyric acid Ⅲ-1(1)-0103
DL-α-Amino-β-hydroxy-*n*-

butyric acid Ⅲ-1(1)-0101
L-α-Amino-β-hydroxy-n-butyric acid Ⅲ-1(1)-0102
trans-2-Amino-3-budroxybutyric acid Ⅲ-1(2)-0099
2-Amino-6-hydroxy-7-methylpurine Ⅲ-4(1)-0097
DL-2-Amino-3-hydroxypentanedioic acid Ⅲ-1(1)-0060
D-α-Amino-β-hydroxyphenyl propionic acid Ⅲ-1(1)-0115
DL-α-Amino-β-hydroxyphenyl propionic acid Ⅲ-1(1)-0113
L-α-Amino-β-hydroxyphenyl propionic acid Ⅲ-1(1)-0114
D-α-Amino-β-hydroxypropionic acid Ⅲ-1(1)-0099
DL-α-Amino-β-hydroxypropionic acid Ⅲ-1(1)-0097
L-α-Amino-β-hydroxypropinoic acid Ⅲ-1(1)-0098
2-Amino-6-hydroxypurine Ⅲ-4(1)-0004
4-Amino-2-hydroxypyrimidine Ⅲ-4(1)-0002
α-Amino-β-hydroxyvaleric acid Ⅲ-1(1)-0012
5-Amino-4-imidazolecarboxamide ribonucleotide Ⅲ-4(2)-0015
5-Amino-4-imidazlecarboxamide ribotide Ⅲ-4(2)-0015
D-α-Amino-4(5)-imidazolepropionic acid Ⅲ-1(1)-0050
DL-α-Amino-4(5)-imidazolepropionic acid Ⅲ-1(1)-0048
L-α-Amino-4(5)-imidazolepropionic acid Ⅲ-1(1)-0049
5-Aminoimidazole-1-β-D-ribofuramosyl-5′-phosphate Ⅲ-4(2)-0016
5-Aminoimidazole ribonucleotide Ⅲ-4(2)-0016
5-Aminoimidaxole ribotide Ⅲ-4(2)-0016
D-α-Amino-3-indole-propionic acid Ⅲ-1(1)-0112
DL-α-Amino-3-indole-propionic acid Ⅲ-1(1)-0110
L-α-Amino-3-indole-propionic acid Ⅲ-1(1)-0111
D-β-Aminoisobutyric acid Ⅲ-1(1)-0016
DL-β-Amino isobutyric acid Ⅲ-1(1)-0014
L-β-Amino isobutyric acid Ⅲ-1(1)-0015
α-Amino isobutyric acid Ⅲ-1(1)-0013
D-α-Amino isocaproic acid Ⅲ-1(1)-0077
DL-α-Aminoisocaproic acid Ⅲ-1(1)-0075
L-α-Amino isocaproic acid Ⅲ-1(1)-0076
D-α-Amino-isovaleric acid Ⅲ-1(1)-0118
DL-α-Amino isovaleric acid Ⅲ-1(1)-0116
L-α-Amino-isovaleric acid Ⅲ-1(1)-0117
S-Aminolaevulinic acid hydrochloride Ⅲ-1(2)-0058
5-Aminolevulinic acid hydrochloride Ⅲ-1(2)-0058
Aminomalonic acid Ⅲ-1(1)-0128
D-2-Amino-2-methyl-butyric acid Ⅲ-1(1)-0121
DL-2-Amino-2-methyl-butyric acid Ⅲ-1(1)-0119
L-2-Amino-2-methyl-butyric acid Ⅲ-1(1)-0120
D-2-Amino-4-mercaptobutyric acid Ⅲ-1(1)-0053
DL-2-Amino-4-mercaptobutyric acid Ⅲ-1(1)-0051
L-2-Amino-4-mercaptobutyric acid Ⅲ-1(1)-0052
α-Amino-α-methyl-propionic acid Ⅲ-1(1)-0013
D-α-Amino-γ-methylthiobutyric acid Ⅲ-1(1)-0086
L-α-Amino-γ-methylthiobutyric acid Ⅲ-1(1)-0085
D-allo-α-Amino-β-methyvaleric acid Ⅲ-1(1)-0074
DL-α-Amino-γ-methyl-thio butyric acid Ⅲ-1(1)-0084
L-allo-α-Amino-β-methyivaleric acid Ⅲ-1(1)-0073
D-α-Amino-β-methyl-valeric acid Ⅲ-1(1)-0072

DL-α-Amino-β-methyl-valeric acid Ⅲ-1(1)-0070
L-α-Amino-β-methyl-valeric acid Ⅲ-1(1)-0071
Aminopeptidase(cytosol) Ⅲ-2(1)-0040
Aminopeptidase M Ⅲ-2(1)-0041
L-α-Aminophenylacetic acid Ⅲ-1(2)-0059
α-Aminophenylacetic acid Ⅲ-1(2)-0121
p-Amino-DL-phenylalanine Ⅲ-1(2)-0060
4-Amino-DL-phenylalanine Ⅲ-1(2)-0060
D-α-Amino-β-phenyl-propionic acid Ⅲ-1(1)-0092
DL-α-Amino-β-phenyl-propionic acid Ⅲ-1(1)-0090
L-α-Amino-β-phenyl-propionic acid Ⅲ-1(1)-0091
D-α-Aminopropionic acid Ⅲ-1(1)-0003
DL-α-Aminopropionic acid Ⅲ-1(1)-0001
L-α-Aminopropionic acid Ⅲ-1(1)-0002
β-Aminopropionic acid Ⅲ-1(1)-0004
Aminopterin Ⅲ-1(2)-0061
6-Aminopurine Ⅲ-1(1)-0001
5-Amino-1-β-D-ribosyl-4-imidazolecarboxamide-5'-phophate Ⅲ-4(2)-0015
5-Amino-1-β-D-ribosylimi dazole-5'-phosphate Ⅲ-4(2)-0016
2-Amino-Succinaldehyde acid Ⅲ-1(2)-0067
D-α-Amino-Succinamic acid Ⅲ-1(1)-0022
DL-α-Amino-Succinamic acid Ⅲ-1(1)-0020
L-α-Amino-Succinamic acid Ⅲ-1(1)-0021
D-α-Aminosuccinic acid Ⅲ-1(1)-0025
DL-α-Aminosuccinic acid Ⅲ-1(1)-0023
L-α-Aminosuccinic acid Ⅲ-1(1)-0024
3-Amino-L-tyrosine dihydro-chloride monohydrate Ⅲ-1(2)-0062
D-α-Amino-δ-ureidovale-ric acid Ⅲ-1(1)-0029
DL-α-Amino-δ-ureidoval-eric acid Ⅲ-1(1)-0027
L-α-Amino-δ-ureidovaleric acid Ⅲ-1(1)-0028
D-α-Amino-n-valeric acid Ⅲ-1(1)-0124
DL-α-Amino-n-valeric acid Ⅲ-1(1)-0122
L-α-Amino-n-valeric acid Ⅲ-1(1)-0123
AMP Ⅲ-4(1)-0064
2'-AMP Ⅲ-4(1)-0062
3'-AMP Ⅲ-4(1)-0063
5'-AMP Ⅲ-4(1)-0064
α-Amylase Ⅲ-2(1)-0009
β-Amylase Ⅲ-2(1)-0010
D-AOD Ⅲ-2(1)-0007
L-AOD Ⅲ-2(1)-0008
Apoferritin Ⅲ-3(1)-0005
1-β-D-Arabinofuranosyl-thymine Ⅲ-4(2)-0024
1-β-D-Arabinofurano-syluracil Ⅲ-4(2)-0025
Arginase Ⅲ-2(1)-0011
D-Arginine Ⅲ-1(1)-0019
DL-Arginine Ⅲ-1(1)-0017
L-Arginine Ⅲ-1(1)-0018
L-Arginine amidinase Ⅲ-2(1)-0011
L-Arginine amidinohydrolase Ⅲ-2(1)-0011
L-Arginine methy ester dihydrochloride Ⅲ-1(2)-0063
Arginine Phosphate, borium salt Ⅲ-1(2)-0064
Arterenol Ⅲ-1(2)-0119
D-Asparagine Ⅲ-1(1)-0022
DL-Asparagine Ⅲ-1(1)-0020
L-Asparagin Ⅲ-1(1)-0021
4-Aspartal Ⅲ-1(2)-0067
D-Aspartic acid Ⅲ-1(1)-0025
DL-Aspartic acid Ⅲ-1(1)-0023
L-Aspartic acid Ⅲ-1(1)-0024
L-Aspartic acid di-t-butyl ester hydrochloride Ⅲ-1(2)-0065
L-Aspartic acid dimethyl ester hydrochloride Ⅲ-1(2)-0066
D-Aspartic acid β-mono amide Ⅲ-1(1)-0022
DL-Aspartic acid β-monoamide Ⅲ-1(1)-0020
L-Aspartic acid β-monoamide Ⅲ-1(1)-0021
L-Aspartic-β-Semialdehyde Ⅲ-1(2)-0067

β-L-Aspartylphosphate Ⅲ-1(2)-0068
Asp-$(OMe)_2$·Hcl Ⅲ-1(2)-0066
Asp-$(OTB)_2$·Hcl Ⅲ-1(2)-0065
ATEE Ⅲ-1(1)-0049
ATP Ⅲ-4(1)-0065
5′-ATP Ⅲ-4(1)-0065
αATP Ⅲ-4(1)-0071
ATP:AMP Phosphotra-
nsferase Ⅲ-2(1)-0046
ATP ase Ⅲ-2(1)-0082
ATP:Creatine *N*-Phosphotra-
nsferase Ⅲ-2(1)-0018
ATP:5′-dephosphopolynucle-
otide 5′-Phosphotransferase Ⅲ-2(1)-0058
ATP:D-Hexose-6-Phosphotra-
nsferase Ⅲ-2(1)-0034
ATP:NAD^+2′-Phosphotransf
erase Ⅲ-2(1)-0047
ATP Phosphohydrolase Ⅲ-2(1)-0082
ATP:Pyruvate 2-*O*-Phospho-
transferase Ⅲ-2(1)-0061
Avidin (egg white) Ⅲ-3(1)-0006
Azoalbumin Ⅲ-2(2)-0003
Azocasein Ⅲ-3(1)-0007
Azocasein Sodium Salt Ⅲ-2(2)-0004
Azaserine Ⅲ-1(2)-0069

B

BAA Ⅲ-1(2)-0161
BAEE Ⅲ-1(2)-0162
BAME. HCO_3 Ⅲ-1(2)-0163
BAME. HCL Ⅲ-2(2)-0006
BANA Ⅲ-2(2)-0005
L-BAPA Ⅲ-2(2)-0007
Ba Phosphoarginine Ⅲ-1(2)-0064
DL-BAPNA Ⅲ-1(2)-0165
L-BAPNA Ⅲ-2(2)-0007
DL-2-Bengamidopropionic
acid Ⅲ-1(2)-0157
N-Benzoyl-DL-alanine Ⅲ-1(2)-0157
N-Benzoyl-L-alanine Ⅲ-1(2)-0158
$N^α$-Benzoyl-L-alanine methyl
ester Ⅲ-1(2)-0159
$N^α$-Benzoyl-L-argininamide hydro-
chloride Ⅲ-1(2)-0161
$N^α$-Benzoyl-L-arginine Ⅲ-1(2)-0160
$N^α$-Benzoyl-L-arginine ethyl ester
hydrochloride Ⅲ-1(2)-0162
$N^α$-Benzoyl-L-arginine methyl ester
hydrohen carbenate Ⅲ-1(2)-0163
$N^α$-Bengoyl-L-arginine methyl ester
hydrochloride Ⅲ-2(2)-0006
$N^α$-Benzoyl-DL-arginine-β-naphthyl-
amide hydrochloride Ⅲ-2(2)-0005
α-*N*-Benzoyl-DL-arginine 2-naphthy-
lamide hydrochloride Ⅲ-2(2)-0005
$N^α$-Benzoyl-DL-arginine-*p*-nitro-anilide
hydrochloride Ⅲ-1(2)-0165
$N^α$-Benzoyl-L-arginine-*p*-nitroanilide
hydrochloride Ⅲ-2(2)-0007
N-Benzoylglycine Ⅲ-1(2)-0097
$N^α$-Benzoyl-DL-Phenyla-
lanine Ⅲ-1(2)-0166
$N^α$-Benzoyl-D-tyrosine Ⅲ-1(2)-0168
$N^α$-Benzoyl-L-tyrosine Ⅲ-1(2)-0167
$N^α$-Benzoyl-L-tyrosine ethyl
ester Ⅲ-1(2)-0169
S-Benzyl-L-Cysteine Ⅲ-1(2)-0070
$N^α$-Benzyloxycarbonyl-L-
alanine Ⅲ-1(2)-0170
$N^α$-Benzyloxycarbonyl-
arginine Ⅲ-1(2)-0171
$N^α$-Benzyloxycarbonyl asparagine
Ⅲ-1(2)-0172
$N^α$-Benzyloxycarbonyl-S-benzyl-
cyoteine Ⅲ-1(2)-0176
$N^α$-Benzyloxycarbonyl-cycloglut-
amic acid Ⅲ-1(2)-0173
$N^α$-Benzyloxycarbonyl-L-glutamic
acid Ⅲ-1(2)-0175
$N^α$-Benzyloxycarbonyl-glut-
amine Ⅲ-1(2)-0174
$N^α$-Benzyloxycarbonyl-
glycine Ⅲ-1(2)-0177
$N^α$-Benzyloxycarbonyl-L-
histidine Ⅲ-(2)-0178
$N^α$-Benzyloxycarbonyl-L-
isoleucine Ⅲ-1(2)-0179

N^{α}-Benzyloxycarbonyl-leucine Ⅲ-1(2)-0180
N^{α}-Benzyloxycarbonyl-lysine Ⅲ-1(2)-0181
N^{ϵ}-Benzyloxycarbonyl-L-lysine Ⅲ-1(2)-0182
N^{α}-Benzyloxycarbonyl-L-methionine Ⅲ-1(2)-0183
N^{α}-Benzyloxycarbonyl-L-phenylalanine Ⅲ-1(2)-0184
N^{α}-Benzyloxycarbonyl-L-Proline Ⅲ-1(2)-0185
N^{α}-Benzyloxycarbonyl-L-Pyroglutamicacid Ⅲ-1(2)-0173
N^{α}-Benzyloxycarbonyl-L-Serine Ⅲ-1(2)-0186
N^{α}-Benzyloxycarbonyl-L-threonine Ⅲ-1(2)-0187
N^{α}-Benzyloxycarbonyl-L-tryptophan Ⅲ-1(2)-0188
N^{α}-t-Butyloxycarbonyl-L-tryptophan Ⅲ-1(2)-0155
N^{α}-Benzyloxycarbonyl-L-tyrosine Ⅲ-1(2)-0189
N^{α}-Benzyloxycarbonyl-L-valine Ⅲ-1(2)-0190
O-Benzyl-L-Serine Ⅲ-1(2)-0071
O-Benzyl-L-tyrosine Ⅲ-1(2)-0072
Betaine Ⅲ-1(2)-0073
Bis-4-nitrophenyl phosphate calcium salt Ⅲ-2(2)-0027
Bis-(*P*-nitrophenyl) phosphate calcium salt Ⅲ-2(2)-0027
BNPP Ⅲ-2(2)-0027
Boc-Ala Ⅲ-1(2)-0131
Boc-Ala-ONSu Ⅲ-1(2)-0132
Boc-Ala-ONp Ⅲ-2(2)-0008
Boc-Arg·Hcl Ⅲ-1(2)-0134
N^{α}-Boc-Asn Ⅲ-1(2)-0137
Boc-Asn-ONp Ⅲ-2(2)-0009
N^{α}-Boc-Asp-β-OB Ⅲ-1(2)-0135
N^{α}-Boc-Asp-β-OBzl Ⅲ-1(2)-0136
N-Boc-O-benzyl-L-Tyr-ONp Ⅲ-2(2)-0013
N^{ϵ}-Boc-N^{α}-Cbz-L-LYS-ONp Ⅲ-2(2)-0079
Boc-Cyo-S-Bzl Ⅲ-1(2)-0138
Boc-Gln Ⅲ-1(2)-0139
N^{α}-*t*-Boc-L-Gln-ONp Ⅲ-2(2)-0010
Boc-Glu-r-(OBut) Ⅲ-1(2)-0141
Boc-Glu-r-OBzl DCHA Ⅲ-1(2)-0140
Boc-Gly Ⅲ-1(2)-0142
N^{α}-Boc-His-N^{im}-Bzl Ⅲ-1(2)-0143
Boc-Ile Ⅲ-1(2)-0144
Boc-Leu Ⅲ-1(2)-0145
N^{α}-Boc-Lys-N^{ϵ}-Z Ⅲ-1(2)-0146
Boc-Net Ⅲ-1(2)-0147
Boc-Met-ONp Ⅲ-2(2)-0011
Boc-phe Ⅲ-1(2)-0148
Boc-phe-ONp Ⅲ-2(2)-0012
Boc-Pro Ⅲ-1(2)-0149
Boc-Ser Ⅲ-1(2)-0150
Boc-Ser-OBzl Ⅲ-1(2)-0151
Boc-Thr Ⅲ-1(2)-0152
Boc-Thr-OBzl Ⅲ-1(2)-0153
N^{α}-Boc-N^{ω}-Tos-Arp Ⅲ-1(2)-0133
Boc-Trp Ⅲ-1(2)-0155
Boc-Tyr-OBzl Ⅲ-1(2)-0154
Boc-Val Ⅲ-1(2)-0156
Bovine serum albumin Ⅲ-3(1)-0002
BPN′ Ⅲ-2(1)-0072
Bromelain (pine apple) Ⅲ-2(1)-0012
5-Bromodeoxyuridine Ⅲ-4(2)-0017
BSA Ⅲ-3(1)-0002
BS-IAB$_3$ Ⅲ-3(2)-0005
BS-IA$_2$B$_2$ Ⅲ-3(2)-0004
BS-IA$_3$B Ⅲ-3(2)-0003
BS-IA$_4$ Ⅲ-3(2)-0002
BS-IB$_4$ Ⅲ-3(2)-0006
BTEE Ⅲ-1(2)-0169
N^{α}-Butylcarbonly-N^{im}-benzyl-L-histidine Ⅲ-1(2)-0143
N^{α}-t-Butylcarbonyl-L-glutamic acid-γ-benzyl ester dicyclohexylamine salt Ⅲ-1(2)-0140
D-α-Butylglycine Ⅲ-1(1)-0080
DL-α-Butylglycine Ⅲ-1(1)-0078
L-α-Butylglycine Ⅲ-1(1)-0079
N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyla-

lanine Ⅲ-1(2)-0131

N-*t*-Butyloxycarbonylalanine-*N*-hydroxysuccinimide ester Ⅲ-1(2)-0132

N-*t*-Butyloxycarbonyl-L-alanine-*p*-nitrophenyl ester Ⅲ-2(2)-0008

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-L-arginine hydrochloride Ⅲ-1(2)-0134

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-L-asparagine Ⅲ-1(2)-0137

N^{α}-t'-Butyloxycarbonyl-L-aspartic acid-4-benzyl ester Ⅲ-1(2)-0136

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-β-*O*-aspartic acid-*t*-butyl ester Ⅲ-1(2)-0135

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-L-asparagine-*P*-nitrophenyl ester Ⅲ-2-(2)-0009

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-*S*-benzyl-L-cysteine Ⅲ-1(2)-0138

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-*O*-benzyl-L-serine Ⅲ-1(2)-0151

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-*O*-benzyl-L-threonine Ⅲ-1(2)-0153

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-*O*-benzyl-L-tyrosine Ⅲ-1(2)-0154

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-*O*-benzyl-L-tyrosine-p-nitrophenyl ester Ⅲ-2(2)-0013

N^{ε}-Benzyloxycarbonyl-N^{α}-butyloxycarboxyl-L-lysine Ⅲ-1(2)-0146

N^{ε}-*t*-Butyloxycarbonyl-N^{α}-carbobenzoxy-L-lysine-*p*-nitrophenyl ester Ⅲ-2(2)-0079

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-L-glutamic acid-γ-butyl ester Ⅲ-1(2)-0141

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-L-glutamine Ⅲ-1(2)-0139

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-L-glutamine-*p*-nitrophenyl ester Ⅲ-2(2)-0010

N^{α}-Butyloxycarbonyl-glycine Ⅲ-1(2)-0142

N-*t*-Butyloxycarbonyl-L-isoleucine Ⅲ-1(2)-0144

N-*t*-Butyloxycarbonyl-L-leucine Ⅲ-1(2)-0145

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-L-methionine Ⅲ-1(2)-0147

N-*t*-Butyloxycarbonyl-L-methionine-*p*-nitrophenyl ester Ⅲ-2(2)-0011

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-Phenylalanine Ⅲ-1(2)-0148

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-L-Phenylalanine-*p*-nitrophenyl ester Ⅲ-2(2)-0012

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-L-proline Ⅲ-1(2)-0149

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-L-serine Ⅲ-1(2)-0150

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-N^{ω}-tosyl-L-arginine Ⅲ-1(2)-0133

N^{α}-*t*-Butyloxycarbonyl-L-threonine Ⅲ-1(2)-0152

N^{α}-Butyloxycarbonyl-L-valine Ⅲ-1(2)-0156

Butyric acid 4-nitrophenyl ester Ⅲ-2(2)-0053

D-Butyrine Ⅲ-1(1)-0010

DL-Butyrine Ⅲ-1(1)-0008

L-Butyrine Ⅲ-1(1)-0009

Butyrine methyl ester hydrochloride Ⅲ-1(2)-0056

S-Bz-Cys Ⅲ-1(2)-0070

S-bzl-*N*-Z-Cys-ONp Ⅲ-2(2)-0014

O-Bz-L-ser Ⅲ-1(2)-0071

C

cAMP Ⅲ-4(2)-0028

Canaline Ⅲ-1(2)-0074

L-Canavanine Ⅲ-1(1)-0026

N^{δ}-Carbamyl-D-ornithine Ⅲ-1(1)-0029

N-δ-Carbamyl-D-ornithine Ⅲ-1(1)-0029

N^{δ}-Carbamyl-DL-ornithine Ⅲ-1(1)-0027

N-δ-Carbamyl-DL-ornithine Ⅲ-1(1)-0027

N^{δ}-Carbamyl-L-ornithine Ⅲ-1(1)-0028

N-δ-Carbamyl-L-ornithine Ⅲ-1(1)-0028

N^{α}-Carbobenzoxyalanine Ⅲ-1(2)-0170

N^{α}-Carbobenzoxyarginine Ⅲ-1(2)-0171

N^{α}-Carbobenzoxyasparagine Ⅲ-1(2)-0172

N^{α}-Carbobenzoxy-*S*-benzyl-cysteine Ⅲ-1(2)-0176

N-Carbobenzoxy-*S*-benzyl-L-cyoteine-*p*-nitrophenyl ester Ⅲ-2(2)-0014

N^{α}-Carbobenzoxyglutamic acid Ⅲ-1(2)-0175
N^{α}-Carbobenzoxyglutamine Ⅲ-1(2)-0174
N^{α}-Carbobenzoxyglycine Ⅲ-1(2)-0177
N^{α}-Carbobenzoxyhiotidine Ⅲ-1(2)-0178
N^{α}-Carbobenzoxyisoleucine Ⅲ-1(2)-0179
N^{α}-Carbobenzoxyleucine Ⅲ-1(2)-0180
N^{α}-Carbobenzoxylyoine Ⅲ-1(2)-0181
N^{ϵ}-Carbobenzoxylyoine Ⅲ-1(2)-0182
N^{α}-Carbobenzoxymethionine Ⅲ-1(2)-0183
N^{α}-Carbobenzoxyphenylalanine Ⅲ-1(2)-0184
N^{α}-Carbobenzoxyproline Ⅲ-1(2)-0185
N^{α}-Carbobenzoxypyroglutamic acid Ⅲ-1(2)-0173
N^{α}-Carbobenzoxyserine Ⅲ-1(2)-0186
N^{α}-Carbobenzoxythreonine Ⅲ-1(2)-0187
N^{α}-Carbobenzoxytryptophan Ⅲ-1(2)-0188
N^{α}-Carbobenzoxytyrosine Ⅲ-1(2)-0189
N-Carbobenzoxy-L-tyrosine-*p*-nitrophenyl ester Ⅲ-2(2)-0015
N^{α}-Carbobenzoxyvaline Ⅲ-1(2)-0190
N-Carbobenzoxy-L-valine-*p*-nitrophenyl ester Ⅲ-2(2)-0016
Carboxyhemoglobin (erythrocytes) Ⅲ-3(1)-0008
S-Carboxymethyl-*L*-cysteine Ⅲ-1(2)-0075
5-Carboxymethyl-2-thiouridine methyl ester Ⅲ-4(1)-0032
5-Carboxymethyluridine Ⅲ-4(1)-0013
2′-Carboxyphenyl-azo-Phenol-4 Ⅲ-2(2)-0033
Caeboxypolypeptidase Ⅲ-2(1)-0013
Caeboxypeptidase A (bovine Pancreas) Ⅲ-2(1)-0013
6-Carboxyuracid Ⅲ-4(2)-0010
6-Carboxyuridine Ⅲ-4(2)-0023
6-Carboxyuridine-5′-Phosphate Ⅲ-4(2)-0041
4,4-Carotene Ⅲ-2(2)-0035
Casein (milk) Ⅲ-3(1)-0009
Catalase (bovin liver) Ⅲ-2(1)-0014
Cbz-Ala Ⅲ-1(2)-0170
Cbz-Arg Ⅲ-1(2)-0171
Cbz-Asp Ⅲ-1(2)-0172
Cbz-*S*-Bzl-Cys Ⅲ-1(2)-0176
N-Cbz-L-Cys (S-Bzl)ONp Ⅲ-2(2)-0014
Cbz-Gln Ⅲ-1(2)-0174
Cbz-Glu Ⅲ-1(2)-0175
Cbz-Gly Ⅲ-1(2)-0177
Cbz-His Ⅲ-1(2)-0178
Cbz-Ile Ⅲ-1(2)-0179
Cbz-Leu Ⅲ-1(2)-0180
Cbz-Lys Ⅲ-1(2)-0181
N-cbz-Lyo Ⅲ-1(2)-0182
Cbz-Met Ⅲ-1(2)-0183
Cbz-Phe Ⅲ-1(2)-0184
Cbz-Pro Ⅲ-1(2)-0185
Cbz-ser Ⅲ-1(2)-0186
Cbz-Thr Ⅲ-1(2)-0187
Cbz-Trp Ⅲ-1(2)-0188
Cbz-Tyr Ⅲ-1(2)-0189
Cbz-Tyr-ONp Ⅲ-2(2)-0015
Cbz-Val Ⅲ-1(2)-0190
Cbz-Val-ONp Ⅲ-2(2)-0016
CDP Ⅲ-4(1)-0066
5′-CDP Ⅲ-4(1)-0066
CDP-choline Ⅲ-4(2)-0032
CDP dipalmatin Ⅲ-4(2)-0033
CDP-ethanolamine Ⅲ-4(2)-0034
CDPG Ⅲ-4(2)-0035
CDP-glucose Ⅲ-4(2)-0035
CDP-glycerol Ⅲ-4(2)-0036
CDP-ribitol Ⅲ-4(2)-0037
Cellulase(Trichoderma viride) Ⅲ-2(1)-0015
(4′-Chloro-3-hydroxy-2′,5′-dimethoxy-2-naphthanilide)-*β*-D-galactoside Ⅲ-2(2)-0031
Cholineoterase, acetyl Ⅲ-2(1)-0001
Chymotrypsin A_4 Ⅲ-2(1)-0016
α-Chymotrypsin(bovin pancreas) Ⅲ-2(1)-0016
α-Chymotrypsinogen A(bovine pancreas) Ⅲ-2(1)-0017
D-Citrulline Ⅲ-1(1)-0029
DL-Citrulline Ⅲ-1(1)-0027
L-Citrulline Ⅲ-1(1)-0028
CK Ⅲ-2(1)-0018

CMP Ⅲ-4(1)-0069

2'-CMP Ⅲ-4(1)-0067

3'-CMP Ⅲ-4(1)-0068

5'-CMP Ⅲ-4(1)-0069

CMP-sialic acid Ⅲ-4(2)-0031

Coagulation factor Ⅱa Ⅲ-2(1)-0075

Collagen Ⅲ-3(1)-0010

Con A Ⅲ-3(2)-0007

Concanavalin A Ⅲ-3(2)-0007

CPA Ⅲ-2(1)-0013

CPK Ⅲ-2(1)-0018

Creatine Ⅲ-1(2)-0076

Creatine kinase Ⅲ-2(1)-0018

Creatine phosphokinase Ⅲ-2(1)-0018

Creatinine Ⅲ-1(2)-0077

Crotonside Ⅲ-4(2)-0020

CTP Ⅲ-4(1)-0070

d CTP Ⅲ-4(1)-0072

5'-CTP Ⅲ-4(1)-0070

L-β-Cyanoalanine Ⅲ-1(2)-0078

Cyanhemoglobin Ⅲ-3(1)-0011

2',3'-Cyclic AMP Ⅲ-4(2)-0027

3',5'-Cyclic AMP Ⅲ-4(2)-0028

Cycloleucine Ⅲ-1(1)-0129

D-Cycloserine Ⅲ-1(2)-0079

Cystamine Ⅲ-1(2)-0080

Cysteamine Ⅲ-1(2)-0081

Cysteic acid Ⅲ-1(2)-0082

D-Cysteine Ⅲ-1(1)-0032

DL-Cysteine Ⅲ-1(1)-0030

L-Cysteine Ⅲ-1(1)-0031

Cystinamine Ⅲ-1(2)-0080

D-Cystine Ⅲ-1(1)-0035

DL-Cystine Ⅲ-1(1)-0033

L-Cystine Ⅲ-1(1)-0034

Cytidine Ⅲ-4(1)-0014

Cytidine-5'-diphosphate Ⅲ-4(1)-0066

Cytidine-5'-diphosphate Choline Ⅲ-4(2)-0032

Cytidine-5'-diphosphate dipalmilin Ⅲ-4(2)-0033

Cytidine-5'-diphosphate ethanolamine Ⅲ-4(2)-0034

Cytidine-5'-diphosphate-D-glucose Ⅲ-4(2)-0035

Cytidine-5'-diphosphate glycerol Ⅲ-4(2)-0036

Cytidine-5'-diphosphate ribitol Ⅲ-4(2)-0037

Cytidine-5'-phosphate-*N*-acetyl-neuraminic acid Ⅲ-4(2)-0031

Cytidine-2'-phosphate Ⅲ-4(1)-0067

Cytidine-3-phosphate Ⅲ-4(1)-0068

Cytidine-5'-phosphate Ⅲ-4(1)-0069

Cytosine riboside Ⅲ-4(1)-0014

Cytidine-5'-triphosphate Ⅲ-4(1)-0070

2-Cytidylic acid Ⅲ-4(1)-0067

3'-Cytidylic acid Ⅲ-4(1)-0068

5'-Cytidylic acid Ⅲ-4(1)-0069

Cytochrome C Ⅲ-2(1)-0019

Cytosine Ⅲ-4(1)-0002

Cytosine deoxyribose-5'-triphosphate Ⅲ-4(1)-0072

Cytosine deoxyriboside Ⅲ-4(1)-0016

D

Dans-Ala-pd Ⅲ-1(2)-0191

Dans-Arg Ⅲ-1(2)-0192

Dans-Aon Pd Ⅲ-1(2)-0193

Dans-Asp-DCHA Ⅲ-1(2)-0194

Dans-Cyso$_3$H-bDCHA Ⅲ-1(2)-0195

Dans-Gln-DCHA Ⅲ-1(2)-0196

Dans-Glu-DCHA Ⅲ-1(2)-0197

Dans-His Ⅲ-1(2)-0198

Dans-Ile-pd Ⅲ-1(2)-0199

Dans-Leu-pd Ⅲ-1(2)-0200

Dans-Met-pd Ⅲ-1(2)-0202

Dans-phe-pd Ⅲ-1(2)-0203

Dans-pro-pd Ⅲ-1(2)-0204

Dans-Ser Ⅲ-1(2)-0205

Dans-Thr-pd Ⅲ-1(2)-0206

Dans-Trp-pd Ⅲ-1(2)-0207

Dans-Tyr Ⅲ-1(2)-0208

Dans-Val-pd Ⅲ-1(2)-0209

Dansyl-L-alarine piperidine salt Ⅲ-1(2)-0191

N^{α}-Dansyl-L-arginine Ⅲ-1(2)-0192

Dansyl-L-asparagine piperidine salt

Ⅲ-1(2)-0193

Dansyl-L-aspartic acid dicyclohexylamine salt Ⅲ-1(2)-0194

N^{α}-Dansyl-L-cysteic acid bisdicyclohexylamine salt Ⅲ-1(2)-0195

Dansyl-L-glutamic acid dicyclohexylamine salt Ⅲ-1(2)-0197

N^{α}-Dansyl-glutamine dicyclohexylaminesalt Ⅲ-1(2)-0196

N^{α}-Dansyl-histidine Ⅲ-1(2)-0198

Dansyl-L-isoleucine piperidine Salt Ⅲ-1(2)-0199

Dansyl-leucine piperidine salt Ⅲ-1(2)-0200

Dansyl methionine piperidine salt Ⅲ-1(2)-0202

Dansyl-phenylalanine piperidine salt Ⅲ-1(2)-0203

Dansyl-proline piperidine salt Ⅲ-1(2)-0204

Dansyl-serine piperidine salt Ⅲ-1(2)-0205

Dansyl-threonine piperidine salt Ⅲ-1(2)-0206

N^{α}-Dansyl-tryptophan piperidine salt Ⅲ-1(2)-0207

Dansyl-tyrosine Ⅲ-1(2)-0208

Dansyl-valine piperidine salt Ⅲ-1(2)-0209

Deoxyadenosine Ⅲ-4(1)-0015

S-(5'-Deoxyadenosine-5')-homocysteine Ⅲ-1(2)-0053

S-(5'-Deoxyadenosine-5')-meth-ionine chloride Ⅲ-1(2)-0054

Deoxyadenosine-5'-triphosphate Ⅲ-4(1)-0071

Deoxycytidine Ⅲ-4(1)-0016

Deoxycytidine-5'-triphosphate Ⅲ-4(1)-0072

Deoxyguanosine Ⅲ-4(1)-0017

Deoxyguanosine-5-triphosphate2'-Deoxy-6-methylamine-9-β-D- Ⅲ-4(1) 0073
ribofuranosylpurine Ⅲ-4(1)-0033

Deoxynueleotide triphosphate: DNA-deoxynucleotidyl-transferase Ⅲ-2(1)-0022

9-β-D-2'-Deoxyfuranosidoadenine Ⅲ-4(1)-0015

1-β-D-2'-Deoxyribofuranosido-cytidine Ⅲ-4(1)-0016

9-β-D-2'-Deoxyribofuranosidoguanine Ⅲ-4(1)-0017

1-β-2'-Deoxyribofuranosyl-4-methylamine-2-pyrimidinone Ⅲ-4(1)-0038

1-β-D-2'-Deoxyribofuranosido-5-methylcytosine Ⅲ-4(1)-0042

1-β-D-2'-Deoxyribofuranosidothymine Ⅲ-4(1)-0057

1-β-D-2'-Deoxyribofuranosdouracil Ⅲ-4(1)-0018

Deoxyribonuclease Ⅰ Ⅲ-2(1)-0020

Deoxyribonuclease Ⅱ Ⅲ-2(1)-0021

Deoxyribonucleate 3'-oligouncleotidohydrolase Ⅲ-2(1)-0021

Deoxyribonucleate-5'-oligonucl-eotido hydrolase Ⅲ-2(1)-0020

Deoxyribonucleic acid ligase Ⅲ-2(1)-0024

Deoxyribonucleic acid methyl green Ⅲ-2(2)-0024

Deoxyribonucleic acid polymerase Ⅲ-2(1)-0022

2'-Deoxythymidine-5'-4-nitrophenyl phosphate sodium salt Ⅲ-2(2)-0071

Deoxyuridine Ⅲ-4(1)-0018

Deoxyuridine 5'-triphosphate Ⅲ-4(1)-0075

DL-2,4-Diaminobutanoic acid Ⅲ-1(1)-0036

L-2,4-Diaminobutanoic acid Ⅲ-1(1)-0037

DL-2,4-Diaminobutyric acid Ⅲ-1(1)-0036

DL-2,4-Diamine-*n*-butyric acid Ⅲ-1(2)-0084

DL-α,γ-Diaminobutyric acid Ⅲ-1(1)-0036

L-2,4-Diaminobutyric acid Ⅲ-1(1)-0037

1-2,4-Diamino-*n*-butyric acid Ⅲ-1(2)-0083

L-α,γ-Diaminobutyric acid Ⅲ-1(1)-0037

D-α,ϵ-Diaminocaproic acid Ⅲ-1(1)-0083

DL-α,ϵ-Diaminocaproic acid Ⅲ-1(1)-0081

L-α,ϵ-Diaminocaproic acid Ⅲ-1(1)-0082

D-2,6-Diamino-5-hydroxycapoic acid Ⅲ-1(1)-0063

DL-2,6-Diamino-5-hydroxycaproic acid Ⅲ-1(1)-0061

L-2,6-Diamino-5-hydroxycaproic acid Ⅲ-1(1)-0062
D-2,5-Diaminopetanoic acid Ⅲ-1(1)-0089
DL-2,5-Diaminopentanoic acid Ⅲ-1(1)-0087
L-2,5-Diaminopentanoic acid Ⅲ-1(1)-0088
N-{*p*-[(2,4-Diamino-6-pteridylmethyl)amino]benzoyl}glutamic acid Ⅲ-1(2)-0061
D-*α*,*δ*-Diaminovaleric acid Ⅲ-1(1)-0089
DL-*α*,*δ*-Diaminovaleric acid Ⅲ-1(1)-0087
L-*α*,*δ*-Diaminovaleric acid Ⅲ-1(1)-0088
O-Dianisidine Ⅲ-2(2)-0025
Diaphorase Ⅲ-2(1)-0023
3,5-Dibromo-L-tyrosine Ⅲ-1(2)-0085
D-Dicysteine Ⅲ-1(1)-0035
Dl-Dicysteine Ⅲ-1(1)-0033
L-Dicysteine Ⅲ-1(1)-0034
N^{α},N^{ε}-Didansyl-lysine dicyclohexylamine salt Ⅲ-1(2)-0201
N^{α},N^{α}-Di-(2,4-dinitrophenyl)-cystine Ⅲ-1(2)-0214
N^{α},N^{im}-Di-(2,4-dinitrophenyl)-L-histidine Ⅲ-1(2)-0218
N^{α}-N^{ε}-Di-(2,4-dinitrophenyl)-L-lysine Ⅲ-1(2)-0221
N^{α},*O*-Di-(2,4-dinitrophenyl)-L-tyrosine Ⅲ-1(2)-0230
Di-DNP-Cyss Ⅲ-1(2)-0214
Di-DNP-His Ⅲ-1(2)-0218
Di-DNP-Lys Ⅲ-1(2)-0221
Diethyl *P*-nitrophenyl phosphate Ⅲ-2(2)-0026
5,6-Dihydro-5-methyluracil Ⅲ-4(2)-0002
5,6-Dihydro-5-methyluridine Ⅲ-4(1)-0019
β-(3,4-Dihydroxyphenyl)-L-alanine Ⅲ-1(2)-0086
5,6-Dihydroribosylthymidine Ⅲ-4(1)-0019
5,6-Dihydrothymine Ⅲ-4(2)-0002
5,6-Dihydrouracil Ⅲ-4(1)-0003
Dihydrouridine Ⅲ-4(1)-0020
5,6-Dihydrouridine Ⅲ-4(1)-0020
2,6-Dihydroxypurine Ⅲ-4(2)-0014
2,4-Dihydroxypyrimidine Ⅲ-4(1)-0009
3,5-Diiodo-D-thyronine Ⅲ-1(2)-0088
3,5-Diiodo-L-thyronine Ⅲ-1(2)-0087
3,5-Diiodo-DL-tyrosine Ⅲ-1(2)-0090
3,5-Diiodo-L-tyrosine Ⅲ-1(2)-0089
6-(*γ*,*γ*-Dimethyl-allylamino)-9-*β*-D-ribofuranosylpurine Ⅲ-4(1)-0030
3,3′-Dimethoxybenzidine Ⅲ-2(2)-0025
3,3′-Dimethoxy-[1,1′-biphenyl]-4,4′-diamine Ⅲ-2(2)-0025
1,N^{6}-Dimethyladenine Ⅲ-4(2)-0003
7,9-Dimethylguanine Ⅲ-4(2)-0004
N^{6},N^{6}-Dimethyladenosine Ⅲ-4(1)-0021
2-Dimethylamino-7-methyl-9-*β*-D-ribofuranosylpuin-6-one Ⅲ-4(1)-0058
6-Dimethylamino-9-*β*-D-ribofuranosylpurine Ⅲ-4(1)-0021
2-Dimethylamino-9-*β*-D-ribofuranosylpurin-6-one Ⅲ-4(1)-0022
N^{2},N^{2}-Dimethylguanosine Ⅲ-4(1)-0022
N^{α}-2,4-Dinitrophenyl-L-alanine Ⅲ-1(2)-0210
N^{α}-2,4-Dinitropbrnyl-L-arginine Ⅲ-1(2)-0211
N^{α}-2,4-Dinitrophenyl-L-asparagine Ⅲ-1(2)-0212
N^{α}-2,4-Dinitrophenyl-L-aspartic acid Ⅲ-1(2)-0213
N^{α}-2,4-Dinitrophenyl-L-glutamic acid Ⅲ-1(2)-0216
N$^{\alpha}$-2,4-Dinitrophenyl-L-glutamine Ⅲ-1(2)-0215
N^{α}-2,4-Dinitrophenyl-glycine Ⅲ-1(2)-0217
N^{α}-2,4-Dinitrophenyl-L-histidine Ⅲ-1(2)-0219
N^{α}-2,4-Dinitrophenyl-L-isoleucine Ⅲ-1(2)-0220
N^{α}-2,4-Dinitrophenyl-L-leucine Ⅲ-1(2)-0223
N^{ε}-2,4-Dinitrophenyl-L-lysine Ⅲ-1(2)-0222
N^{α}-2,4-Dinitrophenyl-L-methionine Ⅲ-1(2)-0224
N^{α}-2,4-Dinitrophenyl-L-phenylalanine Ⅲ-1(2)-0225
Di-*p*-nitrophenyl phosphate calcium salt Ⅲ-2(2)-0027

N^{α}-2,4-Dinitrophenyl-L-proline Ⅲ-1(2)-0226
N^{α}-2,4-Dinitrophenyl-L-serine Ⅲ-1(2)-0227
N^{α}-2,4-Dinitrophenyl-L-threonine Ⅲ-1(2)-0228
N^{α}-2,4-Dinitrophenyl-L-tryptophan Ⅲ-1(2)-0229
N^{α}-2,4-Dinitrophenyl-L-valine Ⅲ-1(2)-0231
DiNPP Ⅲ-2(2)-0027
D-4,4′-Dithio-bis-(2-aminobutanoic acid) Ⅲ-1(1)-0056
DL-4,4′-Dithio-bis-(2-aminobutanoic acid) Ⅲ-1(1)-0054
L-4,4′-Dithio-bis-(2-aminobutanoic acid) Ⅲ-1(1)-0055
D-3,3′-Dithio-bis-(2-aminopropionic acid) Ⅲ-1(1)-0035
DL-3,3′-Dithio-bis-(2-aminopropionic acid) Ⅲ-1(1)-0033
L-3,3′-Dithio-bis-(2-aminopropionic acid) Ⅲ-1(1)-0034
2,2′-Dithiobis-ethylamine Ⅲ-1(2)-0080
DNA-mathyl green Ⅲ-2(2)-0024
DNA polymerase Ⅲ-2(1)-0022
DNase Ⅰ Ⅲ-2(1)-0020
DNase Ⅱ Ⅲ-2(1)-0021
DNP-Ala Ⅲ-1(2)-0210
DNP-Arg Ⅲ-1(2)-0211
DNP-Asn Ⅲ-1(2)-0212
DNP-Asp Ⅲ-1(2)-0213
DNP-Gln Ⅲ-1(2)-0215
DNP-Glu Ⅲ-1(2)-0216
DNP-Gly Ⅲ-1(2)-0217
DNP-His Ⅲ-1(2)-0219
DNP-Ile Ⅲ-1(2)-0220
DNP-Leu Ⅲ-1(2)-0223
DNP-Lys Ⅲ-1(2)-0222
DNP-Met Ⅲ-1(2)-0224
DNP-Ser Ⅲ-1(2)-0227
DNP-Phe Ⅲ-1(2)-0225
DNP-Pro Ⅲ-1(2)-0226
DNP-Thr Ⅲ-1(2)-0228
DNP-Trp Ⅲ-1(2)-0229
DNP-Tyr Ⅲ-1(2)-0230
DNP-Val Ⅲ-1(2)-0231
Dodecanoic acid 4-nitrophenyl ester Ⅲ-2(2)-0061
Donor,hydrogen-peroxide oxidoreductase Ⅲ-2(1)-0052
Donor,hydrogen peroxide oxidoreductase Ⅲ-2(1)-0039

E

Edestin(hempseed) Ⅲ-3(1)-0012
Elastase Ⅲ-2(1)-0025
Elastin Ⅲ-3(1)-0013
Elastin-Congo Red Ⅲ-2(2)-0028
Elastin-orcein Ⅲ-2(2)-0029
Endodeoxyribonuclease Ⅲ-2(1)-0062
Endopeptidase Ⅲ-2(1)-0059
L-Ergothioneine Ⅲ-1(2)-0091
D-Ethionine Ⅲ-1(1)-0040
DL-Ethionine Ⅲ-1(1)-0038
L-Ethionine Ⅲ-1(1)-0039
D-S-Ethylhomocysteine Ⅲ-1(1)-0040
DL-S-Ethylhomocysteine Ⅲ-1(1)-0038
L-S-Ethylhomocysteine Ⅲ-1(1)-0039
3′-Exonuclease Ⅲ-2(1)-0056
5′-Exonuclease Ⅲ-2(1)-0055
Eboo Ⅲ-2(2)-0026

F

Fabrin-blue Ⅲ-2(2)-0030
Factor Ⅰ Ⅲ-3(1)-0016
Ferritin(horse spleen) Ⅲ-3(1)-0014
Ferrohemoglobin Ⅲ-3(1)-0023
Fibrin Ⅲ-3(1)-0015
Fibrinogen Ⅲ-3(1)-0016
Ficin(Ficus carica) Ⅲ-2(1)-0026
Fluorescein isothiocyanate labeled protein A Ⅲ-3(1)-0017
5-Fluorodeoxyuridine Ⅲ-4(2)-0018
Formamidinoacetic acid Ⅲ-1(2)-0093
Formealy-L-Octopine Ⅲ-1(2)-0120
N-Formamidinoglutaric acid Ⅲ-1(2)-0092
N-Formimino-L-glutamic acid Ⅲ-1(2)-0092

N-Formiminoglycine Ⅲ-1(2)-0093
N-Formyl-L-glutamic acid Ⅲ-1(2)-0094
N-Formyl-*N*-gydroxyglycine Ⅲ-1(2)-0103
D-Fructose-1,6-bithosphate-D-glyceralde-hyde-3-phosphatelyase Ⅲ-2(1)-0006

G

GABA Ⅲ-1(1)-0011
G-Actin Ⅲ-3(1)-0001
β-Galactose naphthol AS-LC Ⅲ-2(2)-0031
α-Galactosidase Ⅲ-2(1)-0027
β-Galactosidase(E.coli) Ⅲ-2(1)-0028
β-D-Galactosidase galacto-hydrolase Ⅲ-2(1)-0028
α-D-Galactoside galacto-hydrolase Ⅲ-2(1)-0027
2-(β-D-Galactosidoxy)naph-thol AS-LC Ⅲ-2(2)-0031
Gamma glolulin Ⅲ-3(1)-0025
GAPDH Ⅲ-2(1)-0032
α-GDH Ⅲ-2(1)-0033
GDP Ⅲ-4(1)-0076
5′-GDP Ⅲ-4(1)-0076
GDPG Ⅲ-4(2)-0038
GDPM Ⅲ-4(2)-0040
GHRF Ⅲ-3(1)-0019
Glt-phe-Nan Ⅲ-2(2)-0019
GDP-fucose Ⅲ-4(2)-0039
GDP-glucose Ⅲ-4(2)-0038
GDP-mannose Ⅲ-4(2)-0040
Gelatin Ⅲ-3(1)-0018
γ-Globulin Ⅲ-3(1)-0025
Glucagon Ⅲ-3(1)-0021
1,4-α-*D*-Glucan-glucanohydro-lase Ⅲ-2(1)-0009
1,4-[1,3;1,4]-β-D-Glucan 4-glucanohydrolase Ⅲ-2(1)-0015
1,4-α-D-Glucan malto-hydrolase Ⅲ-2(1)-0010
Glucose oxidase(Aspergillus niger) Ⅲ-2(1)-0029
β-D-Glucose;oxygen 1-oxidoreductase Ⅲ-2(1)-0029
Glucos-6-phosphate dehydrogenase Ⅲ-2(1)-0030
Glucose-6-phosphate isomerase Ⅲ-2(1)-0057
D-Gluo se-6-phosphate Ketolisomerase Ⅲ-2(1)-0057
D-Glucose-6-phosphate;NADP-1-oxidoreductase Ⅲ-2(1)-0030
β-Glucuronidase Ⅲ-2(1)-0031
β-D-Glucuronide glucuronosohydrolase Ⅲ-2(1)-0031
Glukagon Ⅲ-3(1)-0021
H-Glu(βNA)-OH Ⅲ-2(2)-0018
GLUPA Ⅲ-2(2)-0032
D-Glutamic acid Ⅲ-1(1)-0043
DL-Glutamic acid Ⅲ-1(1)-0041
L-Glutamic acid Ⅲ-1(1)-0042
L-Glutamic acid-γ-1-naphthyl amide Ⅲ-2(2)-0017
L-Glutamic acid-γ-2-napn-thylamide Ⅲ-2(2)-0018
D-Glutamine Ⅲ-1(1)-0046
DL-Glutamine Ⅲ-1(1)-0044
L-Glutamine Ⅲ-1(1)-0045
γ-L-Glutamyl-α-naphthyla-mide Ⅲ-2(2)-0017
L-γ-Glutamyl-β-naphthyla-mide Ⅲ-2(2)-0018
L-γ-Glutamyl-βNA Ⅲ-2(2)-0018
L-Glutamic acid-γ-4-nitroa-nilide Ⅲ-2(2)-0032
L-γ-Glutamyl-*p*-nitroa-nilide Ⅲ-2(2)-0032
Glutaryl-L-phenylalnine-*p*-nitroanilide Ⅲ-2(2)-0019
Glutaryl-phe qNA Ⅲ-2(2)-0019
Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase Ⅲ-2(1)-0032
D-Glyceraldehyde-3-phosphate; NAD+ oxidereductase[pho-sphoregulating] Ⅲ-2(1)-0032
Glycerol-1-phosphate debydrogenase Ⅲ-2(1)-0033
Glycerol-3-phosphate

dehydrogenase Ⅲ-2(1)-0033
L-Glycerol-3-phosphate;NAD oxidoreductase Ⅲ-2(1)-0033
Glycerol-3-phosphate;NAD+2-oxidoreductase Ⅲ-2(1)-0033
α-Glycerophosphate dehydrogenase Ⅲ-2(1)-0033
Glycine Ⅲ-1(1)-0047
Glycine betaine Ⅲ-1(2)-0073
Glycine-*t*-butyl ester hydrochloride Ⅲ-1(2)-0095
Glycine ethyl ester hydrochloride Ⅲ-1(2)-0096
N^6-Glycinocarbonyladenosine Ⅲ-4(1)-0024
Glycocoll Ⅲ-1(1)-0047
D-Glycoleucine Ⅲ-1(1)-0080
DL-Glycoleucine Ⅲ-1(1)-0078
L-Glycoleucine Ⅲ-1(1)-0079
D-Glyoxaline-5-alanine Ⅲ-1(1)-0050
DL-Glyoxaline-5-alanine Ⅲ-1(1)-0048
L-Glyoxaline-5-alanine Ⅲ-1(1)-0049
GMP Ⅲ-4(1)-0079
2′-GMP Ⅲ-4(1)-0077
3′-GMP Ⅲ-4(1)-0078
5′-GMP Ⅲ-4(1)-0079
GOD Ⅲ-2(1)-0029
GPANA Ⅲ-2(2)-0019
G-6-PDH Ⅲ-2(1)-0030
GRF Ⅲ-3(1)-0019
GRIF Ⅲ-3(1)-0020
GRIH Ⅲ-3(1)-0020
Growth hormone releasing factor Ⅲ-3(1)-0019
Growth hormone-releasing hormone(GH-RH) Ⅲ-3(1)-0019
Growth hormone release inhibitory factor Ⅲ-3(1)-0020
Growth hormone release inhibitory hormone Ⅲ-3(1)-0020
GTP Ⅲ-4(1)-0080
dGTP Ⅲ-4(1)-0073
5′-GTP Ⅲ-4(1)-0080
4-Guanidinobenzoic acid-4-methylumbellifecyl seter hydrochloride Ⅲ-2(2)-0044
Guanine Ⅲ-4(1)-0004
Guanine deoxyriboside Ⅲ-4(1)-0017
Guanine deoxyribose-5′-triphosphate Ⅲ-4(1)-0073
Guanosine Ⅲ-4(1)-0023
Guanosine-5′-diphosphate Ⅲ-4(2)-0076
Guanosine-5′-diphosphate-L-fucose Ⅲ-4(2)-0039
Guanosine-5′-diphosphate-D-glucose Ⅲ-4(2)-0038
Guanosine-5′-diphosphate-D-mannose Ⅲ-4(2)-0040
Guanosine 2′-phosphate Ⅲ-4(1)-0077
Guanosine 3′-phosphate Ⅲ-4(1)-0078
Guanosine-5′-phosphate Ⅲ-4(1)-0079
Guanosine 5′-triphosphate Ⅲ-4(1)-0080
2′-Guanylic acid Ⅲ-4(1)-0077
3′-Guanylic acid Ⅲ-4(1)-0078
5′-Guanylic acid Ⅲ-4(1)-0079
Guanyloribonuclease Ⅲ-2(1)-0067

H

HABA Ⅲ-2(2)-0033
Hb Ⅲ-3(1)-0023
HbCO Ⅲ-3(1)-0008
Hadacidin Ⅲ-1(2)-0103
Hemagglutinin(phaseolus vulgaris) Ⅲ-3(2)-0008
Hemocyarin Ⅲ-3(1)-0022
Hemoglobin Ⅲ-3(1)-0023
Herbipoline Ⅲ-4(2)-0004
D-Hexahomoserine Ⅲ-1(2)-0104
n-Hexanoic acid 4-nitrophenyl ester Ⅲ-2(2)-0054
Heradecanoic acid 4-nitrophenyl ester Ⅲ-2(2)-0065
Hexokinase Ⅲ-2(1)-0034
HGF Ⅲ-3(1)-0021
HG-factor Ⅲ-3(1)-0021
Hippuric acid Ⅲ-1(2)-0097
Hippuryl-L-arginine Ⅲ-1(2)-0098
D-Histidine Ⅲ-1(1)-0050
DL-Histidine Ⅲ-1(1)-0048

L-Histidine Ⅲ-1(1)-0049
Histone Ⅲ-3(1)-0024
HK Ⅲ-2(1)-0034
H_2O_2:H_2O_2 Oxidoneductase Ⅲ-2(1)-0052
D-Homocysteine Ⅲ-1(1)-0053
DL-Homocysteine Ⅲ-1(1)-0051
L-Homocysteine Ⅲ-1(1)-0052
D-Homocystine Ⅲ-1(1)-0056
DL-Homocystine Ⅲ-1(1)-0054
L-Homocystine Ⅲ-1(1)-0055
D-Homoserine Ⅲ-1(1)-0059
DL-Homoserine Ⅲ-1(1)-0057
L-Homoserine Ⅲ-1(1)-0058
HRP Ⅲ-2(1)-0014
Hyaluronate-4-glycanohydrolase Ⅲ-2(1)-0035
Hyaluronidase Ⅲ-2(1)-0035
Hyaluronoglucosidase Ⅲ-2(1)-0035
threo-β-Hydroaspartic acid Ⅲ-1(2)-0099
2-Hydroxyadenine Ⅲ-4(2)-0005
2-Hydroxyadenosine Ⅲ-4(2)-0020
D-β-Hydroxyalanine Ⅲ-1(1)-0099
DL-β-Hydroxyalanine Ⅲ-1(1)-0097
L-β-Hydroxyalanine Ⅲ-1(1)-0098
2-Hydroxy-4-amino-5-methylpyrimidine Ⅲ-4(1)-0006
2-Hydroxy-6-aminopurine Ⅲ-4(2)-0005
erythro-β-Hydroxyaspartic acid Ⅲ-1(2)-0100
2-(4-Hydroxyazobenzene) benzoic acid Ⅲ-2(2)-0033
D-γ-Hydroxy-butyrine Ⅲ-1(1)-0059
DL-γ-Hydroxy-butyrine Ⅲ-1(1)-0057
L-γ-Hydroxy-butyrine Ⅲ-1(1)-0058
allo-5-Hydroxy-2,6-diaminohexanic acid Ⅲ-1(2)-0105
DL-3-Hydroxy glutamic acid Ⅲ-1(1)-0060
DL-β-Hydroxyglutamic acid Ⅲ-1(1)-0060
threo-β-Hydroxyglutamic acid Ⅲ-1(2)-0102
N^6-(*trans*-4-Hydroxyisopentenyl) adenine Ⅲ-4(2)-0001
N^6-(*trans*-4-Hydroxyisopentenyl) adenosine Ⅲ-4(1)-0060
3-Hydroxy-L-Kynurenine Ⅲ-1(2)-0102
allo-δ-Hydroxylysine Ⅲ-1(2)-0105
D-δ-Hydroxylysine Ⅲ-1(1)-0063
DL-δ-Hydroxylysine Ⅲ-1(1)-0061
L-δ-Hydroxylysine Ⅲ-1(1)-0062
N^6-(*trans*-4-Hydroxy-3-methyl-2-butenyl) adenosine Ⅲ-4(1)-0060
6-(*trans*-4-Hydroxy-3-methyl-2-butenylamino)purine Ⅲ-4(2)-0001
5-Hydroxymethylcytosine deoxyriboside Ⅲ-4(1)-0025
5-Hydroxymethyldeoxycytidine Ⅲ-4(1)-0025
5-Hydroxymethyldeoxyuridine Ⅲ-4(1)-0026
5-Hydroxymethyl-2,4-dihydroxypyrimidine Ⅲ-4(2)-0013
5-Hydroxymethyluracil Ⅲ-4(2)-0013
5-Hydroxymethyluracil deoxyriboside Ⅲ-4(1)-0026
5-Hydroxymethyluridine Ⅲ-4(1)-0027
2-Hydroxy-5-nitrophenyl sulfate dipotassoium salt Ⅲ-2(2)-0034
6-Hydroxynorleucine Ⅲ-1(2)-0104
β-Hydroxynorvaline Ⅲ-1(1)-0012
D-β-(*p*-Hydroxyphenyl)-alanine Ⅲ-1(1)-0115
DL-β-(*p*-Hydroxyphenyl)alanine Ⅲ-1(1)-0113
L-β-(*p*-Hydroxyphenyl)alanine Ⅲ-1(1)-0114
4-Hydroxy phenylamine Ⅲ-1(2)-0130
2-(4′-Hydroxyphenylazo) benzoic acid Ⅲ-2(2)-0033
D-Hydroxyproline Ⅲ-1(1)-0066
D-allo-Hydroxyproline Ⅲ-1(1)-0069
D-4-Hydroxyproline Ⅲ-1(1)-0066
DL-Hydroxyproline Ⅲ-1(1)-0064
DL-*allo*-Hydroxyproline Ⅲ-1(1)-0067
DL-4-Hydroxyproline Ⅲ-1(1)-0064
L-Hydroxyproline Ⅲ-1(1)-0065
L-*allo*-Hydroxyproline Ⅲ-1(1)-0068
L-4-Hydroxyproline Ⅲ-1(1)-0065
6-Hydroxypurine Ⅲ-4(1)-0005
DL-4-Hydroxy-pyrolidine-2-carboxylic acid Ⅲ-1(1)-0064
D-4-Hydroxy-pyrrolidine-2-

carbocylic acid Ⅲ-1(1)-0066
L-4-Hydroxy-pyrrolidine-2-carboxylic acid Ⅲ-1(1)-0065
5-Hydroxytryptamine Ⅲ-1(2)-0106
5-Hydroxy-DL-tryptohan Ⅲ-1(2)-0107
5-Hydroxyuracil Ⅲ-4(2)-0008
5-Hydroxyuridine Ⅲ-4(1)-0028
Hyperglycemic-glycogenolytic factor Ⅲ-3(1)-0021
Hypotaurine Ⅲ-1(2)-0108
Hypoxanthine Ⅲ-4(1)-0005
Hypoxanthine riboside Ⅲ-4(1)-0029
Hypoxanthine ribosyl 5′-phosphate Ⅲ-4(1)-0081

I

ICDH Ⅲ-2(1)-0036
IFN Ⅲ-3(1)-0027
Ig Ⅲ-3(1)-0025
IgG Ⅲ-3(1)-0026
Immobilized alcohol dehydrogenase on agarose Ⅲ-2(3)-0001
Immobilized alcohol dehydrogenase on polyacylamide Ⅲ-2(3)-0002
Immobilized aldolase on polyacrylamide Ⅲ-2(3)-0003
Immodilized alkaline phosphatase on agarose Ⅲ-2(3)-0004
Immobilized α-amylase on polyacrylanride Ⅲ-2(3)-0005
Immobilized chymotrypsin on carboxyl methyl cellulose Ⅲ-2(3)-0006
Immobilized ficin on carboxyl methyl cellulose Ⅲ-2(3)-0007
Immobilized glucose oxidase on polyacrylamide Ⅲ-2(3)-0008
Immobilized glucose-6-phosphate dehydrogenase on agarose Ⅲ-2(3)-0009
Immobilized glucose-6-phosphate dehydrogenase on polyacrylamide Ⅲ-2(3)-0010
Immobilized hexokinase/glucose 6-phosphate debydrogenase on agarose Ⅲ-2(3)-0011
Immobilized lactic dehydrogenase on polyacrylamide Ⅲ-2(3)-0012
Immobilized papainon carboxymethyl cellulose Ⅲ-2(3)-0013
Immobilized protease on agarose Ⅲ-2(3)-0014
Immobilized ribonuclease A on agarose Ⅲ-2(3)-0015
Immobilized ribonulease A on polyacrylamide Ⅲ-2(3)-0016
Immobilized trypsin on agarose Ⅲ-2(3)-0017
Immobilized trypsin on polyacrylamide Ⅲ-2(3)-0018
Immobilized urease on polyacrylamide Ⅲ-2(3)-0019
Immunoglobulin Ⅲ-3(1)-0025
Immunoglobuin G Ⅲ-3(1)-0026
IMP Ⅲ-4(1)-0081
5′-IMP Ⅲ-4(1)-0081
Inosine Ⅲ-4(1)-0029
Inosine-5′-phosphate Ⅲ-4(1)-0081
5′-Inosinic acid Ⅲ-4(1)-0081
Insoluble alcohol dehydrogenase on agarose Ⅲ-2(3)-0001
Insoluble alcohol dehydrogenase on polyacrylamide Ⅲ-2(3)-0002
Insoluble aldolase on polyacrylamide Ⅲ-2(3)-0003
Insoluble alkaline phosphate on agarose Ⅲ-2(3)-0004
Insoluble α-amylase on polyacrylamide Ⅲ-2(3)-0005
Insoluble chymotrypsin on carboxymethy cellulose Ⅲ-2(3)-0006
Insoluble ficin on carboxymethyl cellulore Ⅲ-2(3)-0007
Insoluble α-1,4-glucan-4-glucanohydrolase Ⅲ-2(3)-0005
Insoluble glucose oxidase on polyacrylamide Ⅲ-2(3)-0008
Insoluble glucose-6-phosphate dehydrogenase on agarose Ⅲ-2(3)-0009
Insoluble glucose-6-phosphate

dehydrogenase on polyacrylamide Ⅲ-2(3)-0010
Insoluble hexokinase/glucose-6-phosphat dehydrogenase on agarose Ⅲ-2(3)-0011
Insoluble lactic dehydrogenase on polyacrylamide Ⅲ-2(3)-0012
Insoluble papain on carboxymethyl cellulose Ⅲ-2(3)-0013
Insoluble protease on agarose Ⅲ-2(3)-0014
Insoluble ribonuclease A on agarose Ⅲ-2(3)-0015
Insoluble ribonuclease A on polyacrylamide Ⅲ-2(3)-0016
Insoluble trypsin on agarose Ⅲ-2(3)-0017
Insoluble trypsin on polyacrylamide Ⅲ-2(3)-0018
Insoluble urease amidohydrolase on polyacrylamide Ⅲ-2(3)-0019
Insoluble urease on polyacrylamide Ⅲ-2(3)-0019
Insulin Ⅲ-3(1)-0035
Interferon Ⅲ-3(1)-0027
Intracellular acid enzyme Ⅲ-2(1)-0059
5-Iododeoxyuridine Ⅲ-4(2)-0019
3-Iodo-L-tyrosine Ⅲ-1(2)-0109
threo-Ds-Isocitrate:NADP+ oxidoreductase [decarboxylating] Ⅲ-2(1)-0036
Isocitric dehydrogenase (NADP) Ⅲ-2(1)-0036
Isoguanine Ⅲ-4(2)-0005
Isoguanosine Ⅲ-4(2)-0020
Isolectin AB_3 Ⅲ-3(2)-0005
Isolectin A_2B_2 Ⅲ-3(2)-0004
Isolectin A_3B Ⅲ-3(2)-0003
Isolectin A_4 Ⅲ-3(2)-0002
Isolectin B_4 Ⅲ-3(2)-0006
D-Isoleucine Ⅲ-1(1)-0072
DL-Isoleucine Ⅲ-1(1)-0070
L-Isoleucine Ⅲ-1(1)-0071
D-*allo*-Isoleucine Ⅲ-1(1)-0074
L-*allo*-Isoleucine Ⅲ-1(1)-0073
N^6-($\triangle^2$-Isopentenyl) adenosine Ⅲ-4(1)-0030
N^6-($\triangle^2$-Isopentenyl)-2-methyl-thioxdenosine Ⅲ-4(1)-0031
D-Isovaline Ⅲ-1(1)-0121
DI-Isovaline Ⅲ-1(1)-0119
L-Isovaline Ⅲ-1(1)-0120

K

Kallikrein Ⅲ-2(1)-0037
Kininogenase Ⅲ-2(1)-0037
Kininogenin Ⅲ-2(1)-0037
L-Kynurenine Ⅲ-1(2)-0110

L

Lactalbumin Ⅲ-3(1)-0028
β-Lactoalbumin Ⅲ-3(1)-0029
α-Lactallumin(borine milk) Ⅲ-3(1)-0028
Lactate dehydrogenase Ⅲ-2(1)-0038
L-Lactate:NAD+oxidoreductase Ⅲ-2(1)-0038
Lactoperoxidase Ⅲ-2(1)-0039
LAD Ⅲ-2(1)-0038
LAP Ⅲ-2(1)-0040
Lauric acid-4-nitrophenyl ester Ⅲ-2(2)-0061
LD Ⅲ-2(1)-0038
LDH Ⅲ-2(1)-0038
D-Leucine Ⅲ-1(1)-0077
DL-Leucine Ⅲ-1(1)-0075
L-Leucine Ⅲ-1(1)-0076
Leucine aminopeptidase(cytosol) Ⅲ-2(1)-0040
Leucine aminopeptidase M(microsmal) Ⅲ-2(1)-0041
L-Leucine-*p*-nitroanilide Ⅲ-2(2)-0020
Lipase Ⅲ-2(1)-0042
Lipoyl dehydrogenase Ⅲ-2(1)-0023
Lohman's isomerase Ⅲ-2(1)-0057
LPO Ⅲ-2(1)-0039
Lucifeiase(Photobucterium fischeri) Ⅲ-2(1)-0043
Lycine Ⅲ-1(2)-0073

Lycopene Ⅲ-2(2)-0035
D-Lysine Ⅲ-1(1)-0083
DL-Lysine Ⅲ-1(1)-0081
L-Lysine Ⅲ-1(1)-0082
Lysoxyme Ⅲ-2(1)-0044
Malate dehydrogenase Ⅲ-2(1)-0045
L-Malate:NAD+oxidoreductase Ⅲ-2(1)-0045
MDH Ⅲ-2(1)-0045
Melibiose Ⅲ-2(1)-0027
D-β-Mercapto-alanine Ⅲ-1(1)-0032
DL-β-Mercapto-alanine Ⅲ-1(1)-0030
L-β-Mercapto-alanine Ⅲ-1(1)-0031
D-Methionine Ⅲ-1(1)-0086
DL-Methionine Ⅲ-1(1)-0084
L-Methionine Ⅲ-1(1)-0085
L-Methionine Sulfone Ⅲ-1(2)-0111
L-Methionine sulfonide Ⅲ-1(2)-0112
2-Methoxyadenosine Ⅲ-4(2)-0021
5-Methoxycarbonylmethyl-2-thiouridine Ⅲ-4(1)-0032
7-Methyladenine Ⅲ-4(2)-0006
N^6-Methyladenosine Ⅲ-4(1)-0037
1-Methyladenosine Ⅲ-4(1)-0034
2-Methyladenosine Ⅲ-4(1)-0035
2'-*O*-Methyladenosine Ⅲ-4(1)-0036
D-α-Methyl-β-alanine Ⅲ-1(1)-0016
DL-α-Methyl-β-alanine Ⅲ-1(1)-0014
L-α-Methyl-β-alanine Ⅲ-1(1)-0015
α-Methylalanine Ⅲ-1(1)-0013
6-Methylaminopurine-deoxyribonuclaoside Ⅲ-4(1)-0033
6-Methylaminopurine ribonuclaoside Ⅲ-4(1)-0037
4-Methylamino-2-pyrimidinone Ⅲ-4(2)-0007
2-Methylamino-9-β-D-ribofuranosylpurin-6-one Ⅲ-4(1)-0045
β-Methyl aspartic acid Ⅲ-1(2)-0113
N^6-(3-Methyl-2-butenyl)adenosine Ⅲ-4(1)-0030
6-(3-Methyl-2-butenyl-amino)-2-methylthio-9-β-D-ribofuranosylpurine Ⅲ-4(1)-0031
2'-*O*-Methylcytidine Ⅲ-4(1)-0039
3-Methylcytidine Ⅲ-4(1)-0040
5-Methylcytidine Ⅲ-4(1)-0041
N^4-Methylcytosine Ⅲ-4(2)-0007
5-Methylcytosine Ⅲ-4(1)-0006
5-Methylcytosine deoxyriboside Ⅲ-4(1)-0042
N^6-Methyldeoxyadenosine Ⅲ-4(1)-0033
N^4-Methyldeoxycytidine Ⅲ-4(1)-0038
5-Methyldeoxycytidine Ⅲ-4(1)-0042
5-Methyldeoxyuridine Ⅲ-4(1)-0057
Methyl ester of borine albumin Ⅲ-3(1)-0004
3-*O*-Methylfluorescein-phosphate-CHA-salt Ⅲ-2(2)-0036
3-*O*-Methylfluorescein phosphate cyclohexylammonium salt Ⅲ-2(2)-0036
N-Methylglycine Ⅲ-1(2)-0124
N^6-Methyl-N^6-glyc nocarbonyladenosine Ⅲ-4(1)-0043
7-Methylguanine Ⅲ-4(1)-0007
N-Methylguanosine Ⅲ-4(1)-0045
1-Methylguanosine Ⅲ-4(1)-0044
2'-*O*-Methylguanosine Ⅲ-4(1)-0046
7-Methylguanosine Ⅲ-4(1)-0047
L-1-Methylhiotidine Ⅲ-1(2)-0114
L-3-Methylhiotidine Ⅲ-1(2)-0115
1-Methylhypoxanthine Ⅲ-4(2)-0012
1-Methylhypoxanthine riboside Ⅲ-4(1)-0048
1-Methylinosine Ⅲ-4(1)-0048
N^{ε}-Methyl-DL-lysine Ⅲ-1(2)-0116
Methylmethionine sulphonium bromide Ⅲ-1(2)-0117
1-Methyl-6-methyl-aminopurine Ⅲ-4(2)-0003
4-Methyl-2-oxo-1:2-benzopyran-7-yl-2'-acetamido-2'-deoxy-β-D-glucopyranosine Ⅲ-2(2)-0039
4-Methyl-2-oxo-1:2-benzopyran-7-yl-β-D-glucosiduronic acid Ⅲ-2(2)-0043
1-Methyl-6-purinone Ⅲ-4(2)-0012
5-Methyl-2-thiouridine Ⅲ-4(1)-0049
5-Methyltryptophan Ⅲ-1(2)-0118

4-Methylumbelliferyl-2-acetamido-2deoxy-β-D-galactopyranoside Ⅲ-2(2)-0038
4-Methylumbelliferyl acetate Ⅲ-2(2)-0037
4-Methylumbelliferyl-*N*-acetyl-β-D-galactosaminide Ⅲ-2(2)-0038
4-Methylumbelliferyl-*N*-acetyl-β-D-glucosaminide Ⅲ-2(2)-0039
2'-(4-Methylumbelliferyl)-α-D-N-acetylneuraminic acid sodium salt Ⅲ-2(2)-0040
4-Methylumbelliferyl-β-D-galact-opyranoside Ⅲ-2(2)-0041
4-Methylumbelliferyl-β-D-gluco-pyranoside Ⅲ-2(2)-0042
4-Methylumbelliferyl-β-glucuronide Ⅲ-2(2)-0043
4-Methylumbelliferyl-4-guanidino-benzoate hydrochloride Ⅲ-2(2)-0044
2'-(4-Methylumbelliferyl)sialicacid sodium salt Ⅲ-2(2)-0040
4-Methylumbelliferyl sulfate potassium salt Ⅲ-2(2)-0045
4-Methylumbelliferyl *p*-(N,N,N-trimethyl-ammonium)cinnamate chloride Ⅲ-2(2)-0046
5-Methyluracil Ⅲ-4(1)-0008
2'-*O*-Methyluridine Ⅲ-4(1)-0050
3-Methyluridine Ⅲ-4(1)-0012
5-Methyluridine Ⅲ-4(1)-0051
7-Methylxanthine Ⅲ-4(2)-0009
MIT Ⅲ-1(2)-0109
MUcopeptide *N*-acetylmuramoyl hydrolase Ⅲ-2(1)-0044
MUGB Ⅲ-2(2)-0044
Muramidase Ⅲ-2(1)-0044
Mg-Activatedmuscle Ⅲ-2(1)-0082
Muscle adenylic acid Ⅲ-4(1)-0064
MUS Ⅲ-2(2)-0045
MUTAC Ⅲ-2(2)-0046
Myoglubin(equine hearts) Ⅲ-3(1)-0030
Myorinase Ⅲ-2(1)-0046
Myosin Ⅲ-3(1)-0031

N

NAD kinase Ⅲ-2(1)-0047
NADP-lipoamide oxidoreductase Ⅲ-2(1)-0023
Nagarse Ⅲ-2(1)-0072
Nagarse proteinase Ⅲ-2(1)-0072
Naphthalene-2-[2'-actamido-2'-deoxy-β-D-glucosidoxy]-3-carboxy[2'',3''-dimethoxy-4''-choloanilide] Ⅲ-2(2)-0023
Naphthalene-2-[β-D-galactosidoxy]-3-carboxy-[2'',5''-dimethoxy-4''-chloroanilide] Ⅲ-2(2)-0031
Naphthoic-2-hydroxy-3-(2':5'-dimethoxy-4'-chloroanilide)-β-D-galactoside Ⅲ-2(2)-0031
Naphthol AS-BI 2-acetamido-2-deoxy-β-D-glucopyranoside Ⅲ-2(2)-0047
Naphthol AS-LC-*N*-acetyl-β-glucosamine Ⅲ-2(2)-0023
Naphthol AS-BI *N*-acetyl-β-glucosaminide Ⅲ-2(2)-0047
Naphthol AS-LC-β-D-galactoside Ⅲ-2(2)-0031
1-Naphthyl sulfate potassium salt Ⅲ-2(2)-0048
α-Naphthyl sulfate potassium salt Ⅲ-2(2)-0048
NBA Ⅲ-2(2)-0008
NCDC Ⅲ-2(2)-0049
Nebularine Ⅲ-4(2)-0022
N-(Nebularin-6-yl carbamoyl)-L-threonine Ⅲ-4(1)-0056
Nicotonamide adenine dinuoleotidekinase Ⅲ-2(1)-0047
2-Nitro-4-carboxyphenyl-*N*, *N*-diphenylcarbamate Ⅲ-2(2)-0049
4-Nitrocatechol sulfate dipotassium salt Ⅲ-2(2)-0034
p-Nitrophenyl-2-acetamido-2-deoxy-β-D-glucopyranoside Ⅲ-2(2)-0052
p-Nitrophenyl-2-acetamido-2-deoxy-3, 4, 6-tri-*O*-acetyl glucopyranoside Ⅲ-2(2)-0070
O-Nitrophenyl acetate Ⅲ-2(2)-0050
P-Nitrophenyl acetate Ⅲ-2(2)-0051

2-Nitrophenyl acetate Ⅲ-2(2)-0050
4-Nitrophenyl acetate Ⅲ-2(2)-0051
p-Nitrophenyl-*N*-acetyl-*β*-D-glucosamide Ⅲ-2(2)-0052
p-Nitrophenyl *N*-tert-butyloxycarboxyl-L-alaninate Ⅲ-2(2)-0008
p-Nitrophenyl *n*-butyrate Ⅲ-2(2)-0053
4-Nitrophenyl butyrate Ⅲ-2(2)-0053
p-Nitrophenyl caproate Ⅲ-2(2)-0054
p-Nitrophen yl-*β*-L-fucopyranoside Ⅲ-2(2)-0055
o-Nitrophenyl-*β*-D-galactopyranoside Ⅲ-2(2)-0057
2-Nitrophenyl-*β*-D-galactopyranoside Ⅲ-2(2)-0057
4-Nitrophenyl-*α*-D-galactopyranoside Ⅲ-2(2)-0056
o-Nitrophenyl-*β*-D-galactoside Ⅲ-2(2)-0057
o-Nitrophenyl-*β*-D-glucopyranoside Ⅲ-2(2)-0059
p-Nitrophenyl-*α*-D-glucopyranoside Ⅲ-2(2)-0058
p-Nitrophenyl-*β*-D-glucopyranoside Ⅲ-2(2)-0060
2-Nitrophenyl-*β*-D-glucopyranoside Ⅲ-2(2)-0059
4-Nitrophenyl-*α*-D-glucopyranoside Ⅲ-2(2)-0058
4-Nitrophenyl-*β*-D-glucopyranoside Ⅲ-2(2)-0060
4-Nitrophenyl-*α*-D-glucopyranosyl-(1→4)-*α*-D-glucopyranoside Ⅲ-2(2)-0062
α-*p*-Nitrophenyl glycerine Ⅲ-2(2)-0021
DL-(4-Nitrophenyl)-glycerol Ⅲ-2(2)-0021
p-Nitrophenyl laurato Ⅲ-2(2)-0061
p-Nitrophenyl-*α*-D-maltoside Ⅲ-2(2)-0062
p-Nitrophenyl-*α*-D-mannopyranoside Ⅲ-2(2)-0063
4-Nitrophenyl-*α*-D-mannopyranoside Ⅲ-2(2)-0063
p-Nitrophenyl myriotate Ⅲ-2(2)-0064
p-Nitrophenyl palmitate Ⅲ-2(2)-0065
p-Nitrophenyl phosphate disodium salt Ⅲ-2(2)-0066
4-Nitrophenyl phosphate disodium salt Ⅲ-2(2)-0066
p-Nitrophenyl phosphate(tris) Ⅲ-2(2)-0067
1-*p*-Nitrophenyl-propane-1,2,3-triol Ⅲ-2(2)-0021
p-Nitrophenyl propionate Ⅲ-2(2)-0068
p-Nitrophenyl stearate Ⅲ-2(2)-0069
4-Nitrophenyl stearate Ⅲ-2(2)-0069
p-Nitrophenyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-*β*-D-glucosaminide Ⅲ-2(2)-0070
p-Nitrophenyl thymidine-5′-monophosbate monosodium salt Ⅲ-2(2)-0071
p-Nitrophenyl *n*-valerate Ⅲ-2(2)-0072
Noradrenaline Ⅲ-1(2)-0119
D-Norleucine Ⅲ-1(1)-0080
DL-Norleucine Ⅲ-1(1)-0078
L-Norleucine Ⅲ-1(1)-0079
Norepinephrine Ⅲ-1(2)-0119
D-Norvaline Ⅲ-1(1)-0124
DL-Norvaline Ⅲ-1(1)-0122
L-Norvaline Ⅲ-1(1)-0123
α-NPG Ⅲ-2(2)-0056
4NPP Ⅲ-2(2)-0066
Nucleoside triphosphate:RNA nucleotidyltranoferase Ⅲ-2(1)-0071
Nuclease P_1(*Penicillium* citrinum) Ⅲ-2(1)-0048
Nuclease S_1(Aspergilluo oryzae) Ⅲ-2(1)-0049

O

Octadecanoic acid-4-nitrophenyl ester Ⅲ-2(2)-0069
Octopine Ⅲ-1(2)-0120
Oligonucleato-3′-nucleotidohydrolase Ⅲ-2(1)-0056
Oligonucleate 5′-nucleotidehydrolase Ⅲ-2(1)-0055
ONPG Ⅲ-2(2)-0057
D-Ornithine Ⅲ-1(1)-0089
DL-Ornithine Ⅲ-1(1)-0087
L-Ornithine Ⅲ-1(1)-0088

Orotic acid Ⅲ-4(2)-0010
Orotic acid riboside Ⅲ-4(2)-0023
Orotidine Ⅲ-4(2)-0023
Orotidine 5'-phosphate Ⅲ-4(2)-0041
Orotidylic acid Ⅲ-4(2)-0041
Orthophosphoric-monoester phosphohydrolase [acid optimum] Ⅲ-2(1)-0053
Orthophosphoric-monoester phosphohydrolase [alkaline optimum] Ⅲ-2(1)-0054
Ovalbumin Ⅲ-3(1)-0003
Oxamycin Ⅲ-1(2)-0079
DL-5-Oxoproline Ⅲ-1(1)-0096
L-5-Oxoproline Ⅲ-1(1)-0130
Oxyneurine Ⅲ-1(2)-0073

P

Palmitic acid 4-nitrophenyl ester Ⅲ-2(2)-0065
Pancreatopeptidase E Ⅲ-2(1)-0025
Papain(Carica papaya) Ⅲ-2(1)-0050
Papainase Ⅲ-2(1)-0050
Particle-bound aminopeptidase Ⅲ-2(1)-0041
PDE Ⅱ Ⅲ-2(1)-0056
Pepsin A Ⅲ-2(1)-0051
Pepsin(porcine stomach mucosa) Ⅲ-2(1)-0051
Pentanoic acid 4-nitrophenyl ester Ⅲ-2(2)-0072
Peptidyl-L-amino acid hydrolase Ⅲ-2(1)-0013
Peroxidase(horseradish) Ⅲ-2(1)-0052
PGI Ⅲ-2(1)-0057
PHA Ⅲ-3(2)-0008
Phenolphthalein dibutyrate Ⅲ-2(2)-0073
Phenolphthalein diphosphate pentasodium salt Ⅲ-2(2)-0075
Phenolphthalein diphosphate trisodium salt Ⅲ-2(2)-0074
Phenolphthalein disulfate tripotassium salt Ⅲ-2(2)-0076
Phenolphthalein glucuronic acidsodium salt Ⅲ-2(2)-0077
Phenolphthalein mono-β-glucosiduronic acid sodium salt Ⅲ-2(2)-0077
Phenolphthalein mono-β-glucuronic acid sodium salt Ⅲ-2(2)-0077
Phenolphthalein monophosphate trisodium salt Ⅲ-2(2)-0078
D-Phenylalanine Ⅲ-1(1)-0092
DL-Phenylalanine Ⅲ-1(1)-0090
L-Phenylalanine Ⅲ-1(1)-0091
D(-)-α-Phenylglycine Ⅲ-1(2)-0059
N-Phenylglycine Ⅲ-1(2)-0121
Phenylthiohydantoin-L-alanine Ⅲ-1(2)-0232
Phenylthiohydantoin-L-arginine Ⅲ-1(2)-0233
Phenylthiohydantoin-L-asparagine Ⅲ-1(2)-0234
Phenylthiohydantoin-L-aspartic acid Ⅲ-1(2)-0235
Phenylthiohydantoin-L-glutamic acid Ⅲ-1(2)-0237
Phenylthiohydantoin-L-glutamine Ⅲ-1(2)-0236
Phenyl-2-thiohydantoin glycine Ⅲ-1(2)-0164
Phenylthiohydantoin-L-histidine Ⅲ-1(2)-0238
Phenylthiohydantoin-L-hydroxyproline Ⅲ-1(2)-0239
Phenylthiohydantoin-L-isoleucine Ⅲ-1(2)-0240
Phenylthiohydantoin-L-leucine Ⅲ-1(2)-0241
Phenylthiohydantoin-L-methionine Ⅲ-1(2)-0242
Phenylthiohydantoin-L-phenylalanine Ⅲ-1(2)-0243
Phenylthiohydantoin-L-proline Ⅲ-1(2)-0244
Phenylthiohydantoin-L-serine Ⅲ-1(2)-0245
Phenylthiohydantoin-L-threonine Ⅲ-1(2)-0246
Phenylthiohydantoin-L-tryptophan Ⅲ-1(2)-0247
Phenylthiohydantoin-L-tyrosine Ⅲ-1(2)-0248
Phenylthiohydantoin-L-valine Ⅲ-1(2)-0249
Phosphatase, acid Ⅲ-2(1)-0053

Phosphatase, alkaline Ⅲ-2(1)-0054
Phosphatidylserine Ⅲ-1(2)-0122
Phosphoereatine phosphokinase Ⅲ-2(1)-0018
Phosphodiesterase Ⅰ (Crotalusadamenteuo venom) Ⅲ-2(1)-0055
Phosphodiesterase Ⅱ Ⅲ-2(1)-0056
Phosphoglucose isomerase Ⅲ-2(1)-0057
D-3-Phosphoglycerate dehydrogenase Ⅲ-2(1)-0033
Phosphoric acid diethyl-4-nitrophenyl ester Ⅲ-2(2)-0026
Phosphoric acid tris(*p*-nitrophenyl)ester Ⅲ-2(2)-0067
Phosphoserine Ⅲ-1(2)-0126
Phytohemagglutinin Ⅲ-3(2)-0008
Pig Pancreatic Kallikrein Ⅲ-2(1)-0037
Piperidic acid Ⅲ-1(1)-0011
Piperidinic acid Ⅲ-1(1)-0011
PK Ⅲ-2(1)-0061
PNPA Ⅲ-2(2)-0051
PNPG Ⅲ-2(2)-0021
α-PNPG Ⅲ-2(2)-0058
PNPP Ⅲ-2(2)-0068
Poly[deoxyribonucleotide]; poly[deoxyribonucleo]ligase[AMP forming] Ⅲ-2(1)-0024
Polynucleotide Kinase Ⅲ-2(1)-0058
Polynucleotide ligase Ⅲ-2(1)-0070
Poly(deoxyribonucleotide); poly(deoxyribonucleotibe)ligase[AMP forming] Ⅲ-2(1)-0070
Potassium, 1-naphthyl-sulfate Ⅲ-2(2)-0048
PPK Ⅲ-2(1)-0037
D-Proline Ⅲ-1(1)-0095
DL-Proline Ⅲ-1(1)-0093
L-Proline Ⅲ-1(1)-0094
Propionic acid 4-nitrophenyl ester Ⅲ-2(2)-0068
D-α-Propyl-glycine Ⅲ-1(1)-0124
DL-α-Propyl-glycine Ⅲ-1(1)-0122
L-α-Propyl-glycine Ⅲ-1(1)-0123
Protamine Ⅲ-3(1)-0032
Protease K Type XI Ⅲ-2(1)-0060
Protein A (Staphylococcus aureus) Ⅲ-3(1)-0033
Proteinase A Ⅲ-2(1)-0059
Proteinase K (Tritirachium album) Ⅲ-2(1)-0060
Pseudouridine Ⅲ-4(1)-0052
Pseudouridine C Ⅲ-4(1)-0052
PTH-Ala Ⅲ-1(2)-0232
PTH-Arg Ⅲ-1(2)-0233
PTH-Asn Ⅲ-1(2)-0234
PTH-Asp Ⅲ-1(2)-0235
PTH-Gln Ⅲ-1(2)-0236
PTH-Glu Ⅲ-1(2)-0237
PTH-Gly Ⅲ-1(2)-0164
PTH-His Ⅲ-1(2)-0238
PTH-Ile Ⅲ-1(2)-0240
PTH-Leu Ⅲ-1(2)-0241
PTH-Met Ⅲ-1(2)-0242
PTH-OHPro Ⅲ-1(2)-0239
PTH-Phe Ⅲ-1(2)-0243
PTH-Pro Ⅲ-1(2)-0244
PTH-Ser Ⅲ-1(2)-0245
PTH-Thr Ⅲ-1(2)-0246
PTH-Trp Ⅲ-1(2)-0247
PTH-Tyr Ⅲ-1(2)-0248
PTH-Val Ⅲ-1(2)-0249
Purine Ⅲ-4(2)-0011
Puryloribonuclease Ⅲ-2(1)-0069
DL-Pyroglutamic acid Ⅲ-1(1)-0096
L-Pyroglutamic acid Ⅲ-1(1)-0130
D-Pyrrolidine-2-carboxylic acid Ⅲ-1(1)-0095
DL-Pyrrolidine-2-carboxylic acid Ⅲ-1(1)-0093
L-Pyrrolidine-2-carboxylic acid Ⅲ-1(1)-0094
DL-2-Pyrrolidone-5-carboxylic acid Ⅲ-1(1)-0096
L-2-Pyrrolidone-5-carboxylic acid Ⅲ-1(1)-0130
Δ'-Pyrroline-5-carboxylic acid Ⅲ-1(2)-0123
Pyruvate kinase Ⅲ-2(1)-0061

R

Restriction endonuclease Ⅲ-2(1)-0062
Reverse transcriptase(Avian myelo-blastosis virus) Ⅲ-2(1)-0063
9-β-D-Ribofuranosidoadenine Ⅲ-4(1)-0011
1-β-D-Ribofuranosido cytosine Ⅲ-4(1)-0014
9-β-D-Ribofuranosidoguanine Ⅲ-4(1)-0023
9-β-D-Ribofuranosido hypoxanthine Ⅲ-4(1)-0029
1-β-D-Ribofuranosido orotic acid Ⅲ-4(2)-0023
1-β-D-Ribofuranosidouracil Ⅲ-4(1)-0059
9-β-D-Ribofuranosylpurine Ⅲ-4(2)-0022
N-[(9-β-D-Ribofuranosylpurin-6-yl) carbamoyl]glycine Ⅲ-4(1)-0024
N-[(9-β-D-Ribofuranosylpurin-6-yl) carbamsyl]-L-threonine Ⅲ-4(1)-0056
N-[(9-β-D-Ribofuranosylpurin-6-yl)-N-methylcarbomoyl]glycine Ⅲ-4(1)-0043
1-β-D-Ribofuranosyl thymine Ⅲ-4(1)-0051
5-(β-D-Ribofuranosyl)uracil Ⅲ-4(1)-0052
Ribonuclease Ⅲ-2(1)-0064
Ribonuclease A Ⅲ-2(1)-0065
Ribonuclease A, oxidized Ⅲ-2(1)-0066
Ribonuclease T_1 (Aspergillus orazae) Ⅲ-2(1)-0067
Ribonuclease T_2(Takadieotase) Ⅲ-2(1)-0068
Ribonuclease V_2(Vstilago sphaerogene) Ⅲ-2(1)-0069
Ribonuclease Ⅰ Ⅲ-2(1)-0065
Ribonuclease Ⅱ Ⅲ-2(1)-0068
Ribonucleate 3′-guanylooligonucleo-tidohydrolase Ⅲ-2(1)-0067
Ribonucleate 3′-oligonucleotidohydro-lase Ⅲ-2(1)-0068
Ribonucleate-3′-pyrimidinooligonucleo-tidohydrolase Ⅲ-2(1)-0065
Ribosylthymine Ⅲ-4(1)-0051
5-Ribosyluracil Ⅲ-4(1)-0052
Ribosylzeatin Ⅲ-4(1)-0060
RNA-directed DNA polymerase Ⅲ-2(1)-0063
Sarcosine Ⅲ-1(2)-0124
D-Serine Ⅲ-1(1)-0099
DL-Serine Ⅲ-1(1)-0097
L-Serine Ⅲ-1(1)-0098
DL-Serine ethanolamine phosphodiester Ⅲ-1(2)-0125
Serinephosphate Ⅲ-1(2)-0126
Seromycin Ⅲ-1(2)-0079
Serotonin Ⅲ-1(2)-0106
Sodium(4-methylumbelliferyl)-α-D-acetyl-neuraminate Ⅲ-2(2)-0040
Sodium phenolphthalein-β-D-glucoronide Ⅲ-2(2)-0077
Somatostatin Ⅲ-3(1)-0020
Spleen exonuclease Ⅲ-2(1)-0056
Spongosine Ⅲ-4(2)-0021
Spongothymidine Ⅲ-4(2)-0024
Spongouridine Ⅲ-4(2)-0025
SRIF Ⅲ-3(1)-0020
Subtilisin Ⅲ-2(1)-0073
Subtilisin A Ⅲ-2(1)-0073
Subtilioin BPN′ Ⅲ-2(1)-0072
Subtilisin Carlsberg Ⅲ-2(1)-0073
Subtilopeptidase A Ⅲ-2(1)-0073
Subtilopeptidase C Ⅲ-2(1)-0072
Succinate: (acceptor)oxidoreductase Ⅲ-2(1)-0074
Succinate dehydrogenase Ⅲ-2(1)-0074
Sulfanilic acid-azoalbumin Ⅲ-2(2)-0003
Sulfanilic acid-azocasein sodium salt Ⅲ-2(2)-0004
Systogene Ⅲ-1(2)-0130

T

T_1
TAME Ⅲ-2(2)-0022
Taurine Ⅲ-1(1)-0100
T_4DNA ligase(E. coliNM989) Ⅲ-2(1)-0024
TDPG Ⅲ-4(″)-0042
TDP-glucose Ⅲ-4(2)-0042
TDP-rhamnose Ⅲ-4(2)-0043
Tetradecanoic acid 4-nitrophenyl ester

Ⅲ-2(2)-0064
D-3,5,3′,5′-Tetraiodothyronine Ⅲ-1(1)-0109
DL-3,5,3′,5′-Tetraiodothyronine Ⅲ-1(1)-0107
L-3,5,3′,5′-Tetra iodothyronine Ⅲ-1(1)-0108
2-Thiocytidine Ⅲ-4(1)-0053
2-Thio-1-ribosylthymine Ⅲ-4(1)-0049
Thiosine Ⅲ-1(2)-0091
2-Thiouridine Ⅲ-4(1)-0054
4-Thiouridine Ⅲ-4(1)-0055
D-Threonine Ⅲ-1(1)-0103
DL-Threonine Ⅲ-1(1)-0101
L-Threonine Ⅲ-1(1)-0102
D-*allo*-Threonine Ⅲ-1(1)-0106
DL-*allo*-Threonine Ⅲ-1(1)-0104
L-*allo*-Threonine Ⅲ-1(1)-0105
N^6-Threonineocarbonyladenosine Ⅲ-4(1)-0056
Thrombin Ⅲ-2(1)-0075
Thymidine Ⅲ-4(1)-0057
Thymidine-5′-diphosphate-D-glucose Ⅲ-4(2)-0042
Thymidine-5′-diphosphate L-rhamnose Ⅲ-4(2)-0043
Thymidine-5′-triphosphate Ⅲ-4(1)-0074
Thymine Ⅲ-4(1)-0008
Thymine deoxyriboside Ⅲ-4(1)-0057
Thymine deoxyribose-5′-triphosphate Ⅲ-4(1)-0074
L-Thyronine Ⅲ-1(2)-0127
D-Thyroxine Ⅲ-1(1)-0109
DL-Thyroxine Ⅲ-1(1)-0107
L-Thyroxine Ⅲ-1(1)-0108
N^α-Tosyl-L-arginine Ⅲ-1(2)-0128
N^α-*p*-Tosyl-L-arginine methyl ester hydrochloride Ⅲ-2(2)-0022
Tocosine Ⅲ-1(2)-0130
Transferrin Ⅲ-3(1)-0034
Triacylglycerol acylhydrolase Ⅲ-2(1)-0042
Triacylglgcerol lipase Ⅲ-2(1)-0042
T_4 Ribonucleic acid ligase(T_4-infected E. coli) Ⅲ-2(1)-0070
T_4 Ribonucleic acid polymerase Ⅲ-2(1)-0071
2,4,5-Trihydroxypyrimidine Ⅲ-4(2)-0008
3,5,3′-Triiodo-L-thyronine Ⅲ-1(2)-0129
N^a, N^a, 7-Trimethylguanosine Ⅲ-4(1)-0058
Triosephoophate dehydrogenase Ⅲ-2(1)-0032
Tris(*p*-nitrophenye)phosphate Ⅲ-2(2)-0067
Tris(4-nitrophenyl)phosphate Ⅲ-2(2)-0067
True cholinesterase Ⅲ-2(1)-0001
Trypsin Ⅲ-2(1)-0076
Trypsinogen Ⅲ-2(1)-0077
D-Tryptophan Ⅲ-1(1)-0112
DL-Tryptophan Ⅲ-1(1)-0110
L-Tryptophan Ⅲ-1(1)-0111
dTTP Ⅲ-4(1)-0074
dTTP Ⅲ-4(1)-0074
D-Tyrosine Ⅲ-1(1)-0115
DL-Tyrosine Ⅲ-1(1)-0113
L-Tyrosine Ⅲ-1(1)-0114
Tyramine Ⅲ-1(2)-0130
Tyrosamine Ⅲ-1(2)-0130

U

UDP Ⅲ-4(1)-0082
5′-UDP Ⅲ-4(1)-0082
UDPAG Ⅲ-4(2)-0045
UDP-arabinose Ⅲ-4(2)-0046
DDPG Ⅲ-4(2)-0049
UDP Gal Ⅲ-4(2)-0047
UDP-galacturonic acid Ⅲ-4(2)-0048
UDP-glucose Ⅲ-4(2)-0049
UDP-glucuronic acid Ⅲ-4(2)-0050
UDP-rhamnose Ⅲ-4(2)-0051
UDP-xylose Ⅲ-4(2)-0052
UMP Ⅲ-4(1)-0085
2′-UMP Ⅲ-4(1)-0083
3′-UMP Ⅲ-4(1)-0084
5′-UMP Ⅲ-4(1)-0085
Uracil Ⅲ-4(1)-0009
Uracil-6-carboxylic acid Ⅲ-4(2)-0010
Uracil deoxyribose 5′-triphosphate

Ⅲ-4(1)-0075

Uracil deoxyriboside Ⅲ-4(1)-0018

Uracil riboside Ⅲ-4(1)-0059

Urate; O_2 oxidoreductase Ⅲ-2(1)-0079

Urate oxidase Ⅲ-2(1)-0079

Urease(Jack beano) Ⅲ-2(1)-0078

5-Ureido-D-norvaline Ⅲ-1(1)-0029

5-Ureido-DL-norvaline Ⅲ-1(1)-0027

5-Urieido-L-norvaline Ⅲ-1(1)-0028

Uricase Ⅲ-2(1)-0079

Uridine Ⅲ-4(1)-0059

Uridine-5-acetic acid Ⅲ-4(1)-0013

Uridine-6-carboxylic acid Ⅲ-4(2)-0023

Uridine-5'-dihoophate Ⅲ-4(1)-0082

Uridine-5'-diphosphate-*N*-acetylgalactosamine Ⅲ-4(2)-0044

Uridine-5'-diphosphate *N*-acetylglucosamine Ⅲ-4(2)-0045

Uridine-5'-diphosphate L-arabinose Ⅲ-4(2)-0046

Uridine-5'-diphosphate-D-galactose Ⅲ-4(2)-0047

Uridine-5'-diphosphate-D-galactose acid Ⅲ-4(2)-0048

Uridine-5'-diphosphate-α-D-glucose Ⅲ-4(2)-0049

Uridine-5'-diphosphate-D-glucotronec acid Ⅲ-4(2)-0050

Uridine-5'-diphosphate-L-rhamnose Ⅲ-4(2)-0051

Uridine-5'-diphosphate-D-xylose Ⅲ-4(2)-0052

Uridine-2'-phosphate Ⅲ-4(1)-0083

Uridine-3'-phosphate Ⅲ-4(1)-0084

Uridine-5'-phosphate Ⅲ-4(1)-0085

Uridine-5'-triphosphate Ⅲ-4(1)-0086

2'-Uridylic acid Ⅲ-4(1)-0083

3'-Uridylic acid Ⅲ-4(1)-0084

5'-Uridylic acid Ⅲ-4(1)-0085

Urokinase Ⅲ-2(1)-0080

Uteramine Ⅲ-1(2)-0130

UTP Ⅲ-4(1)-0086

dUTP Ⅲ-4(1)-0075

5'-UTP Ⅲ-4(1)-0086

V

D-Valine Ⅲ-1(1)-0118

DL-Valine Ⅲ-1(1)-0116

L-Valine Ⅲ-1(1)-0117

Venom exonuolease Ⅲ-2(1)-0055

Vernine Ⅲ-4(1)-0023

W

Wheat germ agglutinin Ⅲ-3(2)-0001

Wheat germ lectin Ⅲ-3(2)-0001

WGA Ⅲ-3(2)-0001

X

Xanthine Ⅲ-4(2)-0014

Xanthine oxidase(buttermilk) Ⅲ-2(1)-0081

Xanthine; oxygen oxido reductase Ⅲ-2(1)-0081

Xanthine riboside Ⅲ-4(2)-0026

Xanthosine Ⅲ-4(2)-0026

Y

Yeast adenylic acid Ⅲ-4(1)-0063

Z

Z-Ala Ⅲ-1(2)-0170

Z-Arg Ⅲ-1(2)-0171

Z-Asp Ⅲ-1(2)-0172

Zeatin Ⅲ-4(2)-0001

Zeatin riboside Ⅲ-4(1)-0060

Zeatosine Ⅲ-4(1)-0060

Z-Gln Ⅲ-1(2)-0174

Ⅲ-1(2)-0175

Z-*p*-Gluo Ⅲ-1(2)-0173

Z-Gly Ⅲ-1(2)-0177

Z-His Ⅲ-1(2)-0178

Z-Ile Ⅲ-1(2)-0179

Z-Leu Ⅲ-1(2)-0180

Z-Lys Ⅲ-1(2)-0181

N^{ϵ}-Z-Lys Ⅲ-1(2)-0182

Z-Met Ⅲ-1(2)-0183

Z-phe Ⅲ-1(2)-0184

Z-pro Ⅲ-1(2)-0185

Z-pyro-Gln Ⅲ-1(2)-0173
N^{α}-Z-S-bzl-Cys Ⅲ-1(2)-0176
Z-Ser Ⅲ-1(2)-0186
Z-Thr Ⅲ-1(2)-0187
Z-Trp Ⅲ-1(2)-0188
Z-Tyr Ⅲ-1(2)-0189
Zwischen ferment Ⅲ-2(1)-0030
Z-Val Ⅲ-1(2)-0190
Zymohexase Ⅲ-2(1)-0006